

Aus dem Institut für Medizin
der Kernforschungsanlage Jülich GmbH
Direktor: Prof. Dr. L.E. Feinendegen

Erfassung des Herzfettsäurestoffwechsels mit
radioaktiv halogenierten Phenylfettsäuren
und der ω -markierten Jod-Heptadecansäure
in vivo und in vitro

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Hans-Jürgen Daus
aus Bad-Berleburg/NRW

1982



Aus dem Institut für Medizin
der Kernforschungsanlage Jülich GmbH
Direktor: Prof. Dr. L.E. Feinendegen

Erfassung des Herzfettsäurestoffwechsels mit
radioaktiv halogenierten Phenylfettsäuren
und der ω -markierten Jod-Heptadecansäure
in vivo und in vitro

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Hans-Jürgen Daus
aus Bad-Berleburg/NRW

1982

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez.: Prof. Dr. Brüster

Referent
gez.: Prof. Dr. Feinendegen

Korreferent
gez.: Prof. Dr. Kuhn

Danksagung

Herrn Prof. Dr. L.E. Feinendegen, Direktor des Instituts für Medizin der Kernforschungsanlage Jülich GmbH, danke ich sehr für die Möglichkeit, in seinem Institut zu arbeiten, für seine großzügige Förderung, für das Thema dieser Arbeit und die anregenden Diskussionen.

Herrn Prof. G. Stöcklin (Nuklearchem. Institut der KFA Jülich GmbH) danke ich für die Bereitstellung einzelner Radiopharmaka und die gute Zusammenarbeit, Herrn Dr. S.N. Reske (Institut für Nuklearmedizin, Universität Bonn) für die Hilfe bei der Durchführung der Experimente und die vielfältigen Diskussionen, Fräulein D. Beaujean für die schriftliche Fixierung der Vorträge und des Manuskripts, Herrn D. Strang für die Erstellung des Bildmaterials und Herrn W.E. Schultz für die technische Hilfe bei der Durchführung der Tierexperimente.

Weiterhin danke ich für die förderliche Kooperation und Diskussion im Rahmen dieser Arbeit den Herren Dr. A. Höck, Dr. Chr. Freundlieb, Prof.Dr.K. Vyska, Dipl.-Phys. V. Becker, Dr. H.J. Machulla (Strahlenbiologische Abt. der Universität Essen), Ing. grad. K. Dutschka (Strahlenbiologische Abt. der Univ. Essen) und Dr. van Beuningen (Strahlenbiologische Abt. der Universität Essen).

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. <u>Einleitung</u>	1
1.1. Nuklearmedizinische Bedeutung und Anwendbarkeit verschiedener Radiopharmaka für das Studium des Herzstoffwechsels	1
1.2. Radioaktiv markierte Fettsäuren als Stoffwechselindikatoren in normalen, ischämischen und hypoxischen Herzen	4
1.3. Problemstellung	10
2. <u>Methoden</u>	13
2.1. Radionuklid-Produktion, Synthese der markierten Fettsäuren, Qualitätskontrolle, Identifikation und Reinigung	13
2.2. Herstellung der Injektionslösung	16
2.3. Mäuseversuche	17
2.3.1. Aktivitätsverteilung in verschiedenen Organen	17
2.3.2. Herzanalysen	18
2.3.3. Dünnschichtchromatographische Auftrennung der organischen Phase	20
2.4. Kaninchenversuche	22
2.5. Patientenuntersuchungen	23
3. <u>Ergebnisse und Diskussion</u>	26
3.1 Mäuseversuche	26
3.1.1. Aktivitätsverlauf im Blut	26
3.1.2. Aktivitätsverlauf im Magen	31
3.1.3. Aktivitätsverlauf in der Leber	33
3.1.4. Aktivitätsverlauf in der Niere	35
3.1.5. Aktivitätsverlauf in der Lunge	36
3.1.6. Aktivitätsverlauf im Darm	36
3.1.7. Aktivitätsverlauf im Fettgewebe	37
3.1.8. Fettsäurestoffwechsel im Myokard	38
3.1.8.1. Aufnahme und Elimination der Aktivität	38
3.1.8.2. Der zeitliche Aktivitätsverlauf der Herz/Blut- und der Herz/Leber-Quotienten	

der para-J-Phenylpentadecansäure	42
in der Maus	44
3.1.8.3. Herzanalysen	44
3.1.8.3.1. Aufnahme und Stoffwechsel der verschie-	44
denen Fettsäuren	
3.1.8.3.2. Aktivitäts-Verteilung in der organischen	47
und der wässrigen Phase	
3.1.8.3.3. Auftrennung der organischen Phase	50
3.2. Kaninchenversuche	59
3.2.1. Vergleichende Studien zwischen den in	
para- bzw. ortho-Stellung jodierten	
^{131}J -Phenylfettsäuren und der ω - ^{131}J -Hepta-	
decansäure in Kaninchen	59
3.2.2. Szintigraphische Herzdarstellung und die	
Erfassung des Fettsäureumsatzes der para-	
J-Phenylpentadecansäure im Herzen, im Blut	
und in der Leber von Kaninchen	61
3.2.2.1. Herz	61
3.2.2.2. Blut	64
3.2.2.3. Leber	65
3.3. Patientenuntersuchungen	66
3.3.1. Externe Messung der Fettsäuren-Akkumu-	
lation im Herzen beim Menschen	66
3.3.1.1. Herzdarstellung mit Hilfe der para-J-123-	
Phenylpentadecansäure, der ω -J-123-Heptade-	
cansäure und der ω -p-Br-75-Phenylpentade-	66
cansäure im Menschen	66
3.3.1.2. Analyse des Umsatzes der jodierten Fett-	
säuren im Myokard	73
4. <u>Zusammenfassung</u>	82
4.1. Einleitung	82
4.2. Resultate der biochemischen Analysen	83

4.3	Szintigraphische Darstellung und externe Analyse des Fettsäure-Stoffwechsels des Herzens unter Verwendung einer Gamma Kamera und der Emissions-Positronen-Tomographie mit radioaktiv markierten Fettsäuren in verschiedenen Stoffwechselsituationen	88
-----	---	----

<u>5. Anhang</u>		92
5.1	Tabellen	92
5.2.	Literaturverzeichnis	101

1. EINLEITUNG

1.1. Nuklearmedizinische Bedeutung und Anwendbarkeit verschiedener Radiopharmaka für das Studium des Herzstoffwechsels

Mit kurzlebigen Radionukliden markierte Radiopharmaka gewinnen in der Funktionsdiagnostik zunehmend an Bedeutung. In letzter Zeit konzentrierte sich das Interesse auf die Erfassung von Stoffwechselvorgängen in schwer zugänglichen Organen wie Herz und Gehirn, in denen die Diagnostik von Stoffwechselveränderungen in der Regel sehr kompliziert ist. Dynamische schnelle Stoffwechselvorgänge können im lebenden Organismus ohne Belästigung des Individuums extern mit Hilfe von Gamma-Strahlung emittierenden markierten Radiopharmaka einfach erfaßt werden. Als Radiopharmaka werden in der Regel radioaktiv markierte Stoffwechselsubstrate oder ihre Vorläufer verwendet.

Radioaktive Isotope, die für die Markierung verwendet werden, müssen eine Reihe von Anforderungen erfüllen, so daß die so erhaltenen Radiopharmaka in vivo eingesetzt werden können. Das Radionuklid soll, wenn möglich, keine α - oder β -Strahlung emittieren, sondern nur eine reine γ -Strahlung haben, denn eine α - oder β -Strahlung trägt nicht nur Detektion des eingesetzten Nuklids bei und erhöht die Strahlenbelastung für den Patienten stark. Die Gamma-Energie ist für den effizienten Nachweis und damit indirekt für die Strahlenbelastung von Bedeutung: Die Gamma-Quanten sollten einerseits die Körperbarriere durchdringen, zum anderen sollten die heute gebräuchlichen Gamma-Kameras sie optimal nachweisen können. Deshalb sollte das eingesetzte Radionuklid eine Gamma-Strahlung zwischen 100 und 200 keV emittieren, eine möglichst kurze Halbwertszeit haben, und

es soll in körpereigene Stoffwechselprodukte eingebaut werden können. Die Art der Zerfallstrahlung und die physikalische Halbwertszeit ist für die Strahlenbelastung wichtig. Am häufigsten wurde in der letzten Zeit das schwere Halogenatom J-123 ($t_{1/2} = 13,3$ Stunden) zur Markierung großer Biomoleküle verwendet. Es trat keine Änderung der biologischen Eigenschaften der markierten Stoffwechselsubstrate ein. Für die derzeitigen Gamma-Kameras ist das J-123 mit seiner 159-keV-Gamma-Linie noch das günstigste Radiohalogen-Nuklid. Es besitzt darüber hinaus eine relativ kurze Halbwertszeit.

Die radioaktiven Isotope der Elemente Kohlenstoff, Sauerstoff, Wasserstoff und Stickstoff, die den Hauptbestandteil der organischen Materie bilden, sind vorwiegend Positronenstrahler. Sie besitzen den Vorteil, daß die freigesetzte Energie in Form von 2 mal 511 keV Quanten, die gleichzeitig unter einem Winkel von 180° abgestrahlt werden, zum ortsabhängigen Nachweis verwendet werden können. Hierzu benutzt man die sog. Positronen-Emissions-Tomographen. Mit Hilfe von Positronen-Emissions-Tomographen, in denen eine Vielzahl von in Koinzidenz geschaltete Detektoren in einem Ring angeordnet sind, kann die Aktivitätsverteilung in transaxialen Schnitten extern registriert werden. Der Positronen-Emissions-Tomograph ist das Gegenstück zum Computer-analysierten Transmissions-Tomographen, bei dem das Organ von außen mit Röntgenstrahlung durchstrahlt wird. Anders als beim Transmissionstomographen sind beim Emissions-Tomographen Dichteunterschiede des Gewebes nicht erforderlich, da man die lokale akkumulierte Indikatormenge registriert. Damit können auch dynamische Stoffwechselvorgänge gemessen werden. Am häufigsten wird zur Zeit für die in-vivo-Diagnostik das Kohlenstoff-Isotop

^{11}C ($t_{1/2} = 20,4$ Minuten) benutzt. Die Anwendung der mit ^{11}C -markierten Verbindung ist jedoch nur in unmittelbarer Nähe eines Cyclotrons möglich. Die kurze Halbwertszeit des ^{11}C -Kohlenstoffs bietet allerdings auch Vorteile. Die Strahlenbelastung des Patienten ist nur gering; und nuklearmedizinische Untersuchungen können, wenn nötig, in kurzen Abständen wiederholt werden.

Nicht immer ist es erforderlich, organische Radionuklide zu verwenden. Man kann Wasserstoffatome oder eine Methylgruppe durch radioaktive Atome ersetzen, ohne daß eine wesentliche Änderung der biochemischen Eigenschaften auftritt. So läßt sich z.B. durch Fluor-18 (ebenfalls ein kurzlebiger Positronstrahler) das fast gleich große Wasserstoffatom ersetzen. Auch die Methylgruppe einer organischen Verbindung kann man durch ein Jodatome ersetzen, was besonders wichtig ist in Bezug auf die Größe des Durchmessers des Atoms. Das Jodatome hat nämlich einen ähnlichen Durchmesser ($2,15 \text{ \AA}$) wie die Methylgruppe ($2,00 \text{ \AA}$).

Ein großer Vorteil der kurzlebigen Radionuklide besteht darin, daß sie auch bei größeren Aktivitätsmengen eine relativ geringe Strahlenbelastung für den Patienten darstellen und wiederholt eingesetzt werden können. Außerdem handelt es sich bei den kurzlebigen Radionukliden um sog. trägerfreie Mengen, die praktisch gewichtslos sind (10^{-12} g), soweit sie nicht mit inaktiven Isotopen verdünnt sind. Es ergibt sich daher keine Störung des biologischen Gleichgewichts, auch toxische Verbindungen können eingesetzt werden, sofern sie trägerfrei sind.

1.2 Radioaktiv markierte Fettsäuren als Stoffwechselindikatoren in normalen, ischämischen und hypoxischen Herzen

Langkettige Fettsäuren liefern den Hauptteil der Energie für die Arbeit des Herzmuskels (1). Das Blut des Menschen enthält nur 0,4 - 0,7 μ Eq/ml Fettsäure (2), die unverestert, als Serumalbumin gebunden, transportiert werden; 3,4 - 5 μ Eq/ml der Fettsäure liegen als Glycerinester im Serum vor (2). Die an Albumin gebundenen und veresterten Fettsäuren haben beim Menschen eine biologische Halbwertszeit im Blut von 2 - 4,6 Minuten (2); sie werden im Gegensatz zu den in den Triglyceriden gebundenen Fettsäuren, deren Halbwertszeit 50 - 320 Minuten betragen, sehr schnell aus dem Blut eliminiert und hauptsächlich von dem Fettgewebe nachgeliefert (3).

Das Myokard nimmt unveresterte Fettsäure aus dem Blut auf (4,5). Der Mechanismus, durch den die Fettsäuren über die Kapillärwände und den interstitiellen Raum in die Herzmuskelzelle gelangen, ist nicht bekannt. Da die Fettsäureaufnahme im perfundierten Rattenherzen auch bei 0° abläuft, haben einige Autoren postuliert, daß es sich um einen nicht-aktiven Transport handelt (5,6). Die Extraktionsrate von Fettsäuren durch das Myokard unter normal aeroben Bedingungen in vivo beträgt 15 - 40 % (7). Die Aufnahmeraten sind von verschiedenen Faktoren wie der Kettenlänge von Fettsäuren (8), dem molaren Verhältnis von Fettsäuren zu Albumin im Blut (9), dem Sauerstoffbedarf (10), der zellulären metabolischen Integrität, den regionalen Perfusionsverhältnissen (11), der Konzentration der Fettsäuren im Blut (12) und der Größe der Lipidspeicher im Myokard (13) abhängig. Nach der Aufnahme werden die Fettsäuren zunächst im Cytosol mit

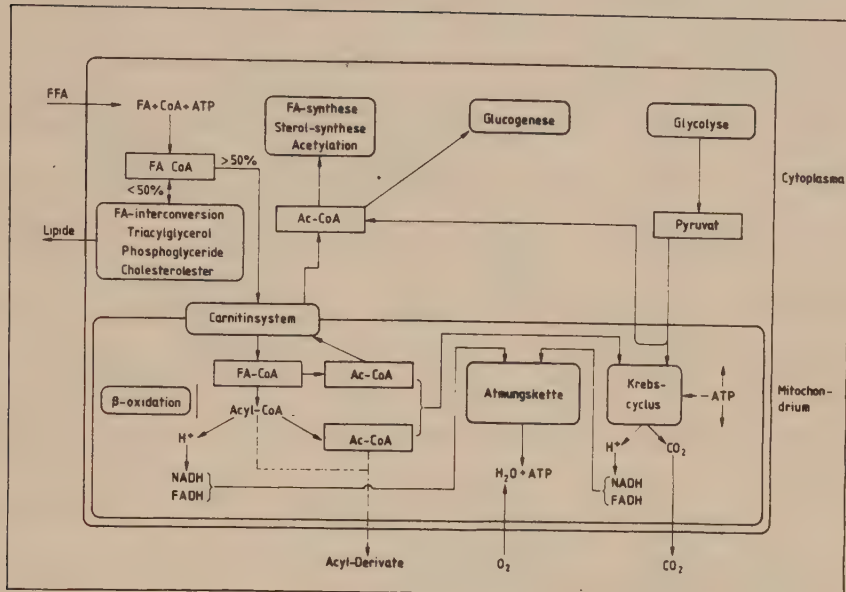


Abb. 1: Vereinfachtes Schema des Fettsäuremetabolismus. Erklärung siehe Text. Abkürzungen: FFA = freie Fettsäuren; CoA = Coenzym A; ATP = Adenosintri-phosphat; Ac-CoA = Acetyl-Coenzym A; NADH = Nikotinamid-abhängige Dehydrogenase; FADH = Riboflavin-abhängige Dehydrogenase; Acyl-CoA = langkettige Coenzym-A-Fettsäureester. Zitiert nach Feinendegen (28).

Coenzym A unter ATP-Verbrauch verestert. Ein Teil wird dann in Phospholipide eingebaut, die Bestandteile der Zellmembran darstellen, ein anderer Teil in Triglyceride eingebaut. Nach der anschließenden Hydrolyse und bevor die Oxidation der Fettsäuren in den Mitochondrien stattfindet (13), müssen die Fettsäuren über ein System von kettenabhängigen Carnitin-Transferasen in die Mitochondrien transportiert werden (siehe Abb. 1). In den Mitochondrien findet dann die Beta-Oxidation mit der Produktion von Acetyl-Coenzym A statt, das zuletzt zur Produktion von CO_2 und H_2O im Krebs-Zyklus führt. Dies trifft insbesondere für die aliphatischen Fettsäuren z.B. der Palmitin-

säure zu, deren Stoffwechsel eingehend im Herzen untersucht wurde (8).

Die Raten der Fettsäurenverstoffwechselung und des Fettsäureabbaus im Herzen werden also unter Umständen durch eine Veränderung des freien Fettsäurespeichers in der Herzzelle, ein Mangel an Sauerstoff und ATP unter struktureller und funktioneller Änderung der Enzyme für den Fettsäuretransport, die Beta-Oxidation, die Atmungskette, den Krebs-Zyklus und die oxidative Phosphorylierung beeinflusst. Eine gezielte Aussage über die Veränderungen des Fettsäureabbaus sowie die externe Erfassung des Fettsäurestoffwechsels und des Abbausystems im Herzen dürfte sehr schwierig sein. Es erscheint jedoch möglich, mit Hilfe von radioaktiv markierten Fettsäuren eine generelle Aussage über die Effizienz des Fettsäureabbaus durch das Herz und die Elimination von markierten Kataboliten aus dem Herzen zu machen.

Die verringerte Blut- und Sauerstoff-Zufuhr sowie das verminderte Fettsäureangebot und auch die geringere Fettsäureextraktion unter den Bedingungen der Hypoxie und/oder der Ischämie (s. Abb. 2 und 3) führt nicht nur zu einer verringerten Aufnahme von Fettsäuren in das Herz (14,15,16,17,19), die zur nuklearmedizinischen in-vivo-Diagnostik benutzt werden kann, sondern auch zu weitgehenden Verschiebungen des Fettsäurestoffwechsels z.B. vermehrten Einbau von Fettsäuren in Triglyceride ähnlich wie bei Diabetes mellitus (18), in den betroffenen Zellen. Der Abbau der Fettsäuren ist bei diesen Fettsäure-Stoffwechselstörungen im Herzen wahrscheinlich auf der Stufe der Beta-Oxidation (17) oder auf der Stufe des Carnitin-Transportsystems gehemmt (19,20).

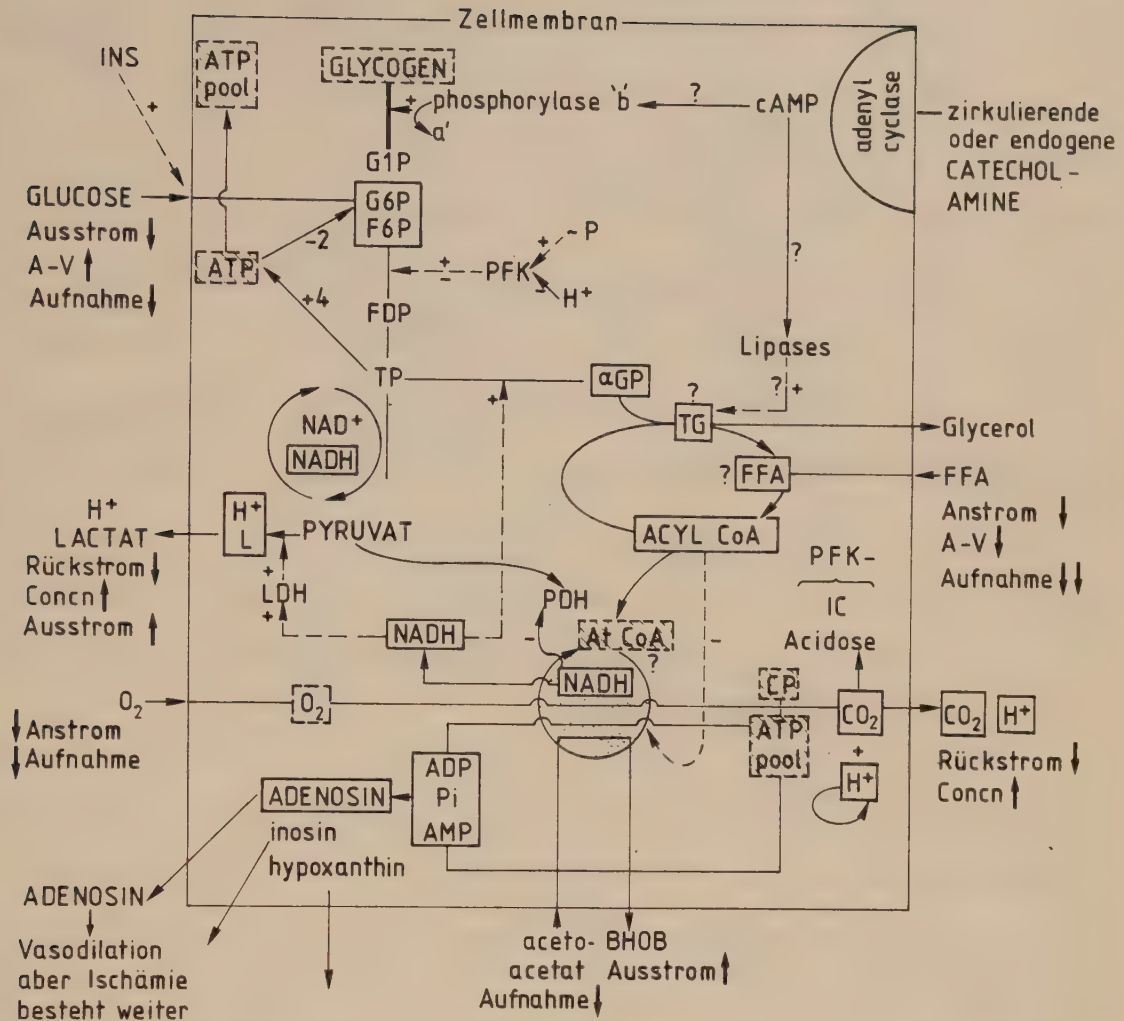


Abb. 2: Regionale Ischämie ohne totale Anoxie. Erklärung siehe Text und Literatur (17). Abkürzungen: INS = Insulinaktivität; PFK = Phosphofructokinase; TP = Triosephosphate; dGP = d-Glycerophosphat; L = Lactat; LDH = Lactatdehydrogenase; PDH = Pyruvatdehydrogenase; CAMP = cyclisches AMP; TG = Triglyceride; β HOB = β -Hydroxylbutyrat; G1P = Glucose 1-Phosphat; G6P = Glucose-6-Phosphat; F6P = Fructose - 6 Phosphat; FDP = Fructose 1,6-diphosphat; FFA = freie Fettsäuren. Zitiert nach Opie (17).

Die ersten Herzdarstellungen mit Hilfe von radioaktiv markierten Fettsäuren von EVANS und Mitarb. (21,22) zeigten, daß sich beim Menschen mangeldurchblutetes und fibröses Herzgewebe z.B. nach einem Herzinfarkt szintigraphisch durch einen Speicherdefekt darstellen läßt. Diese Versuche wurden mit Ölsäure durchgeführt, an die J-131 Jodmonochlorid addiert worden war. Diese anfänglichen Erfolge wurden jedoch begrenzt durch die niedrige

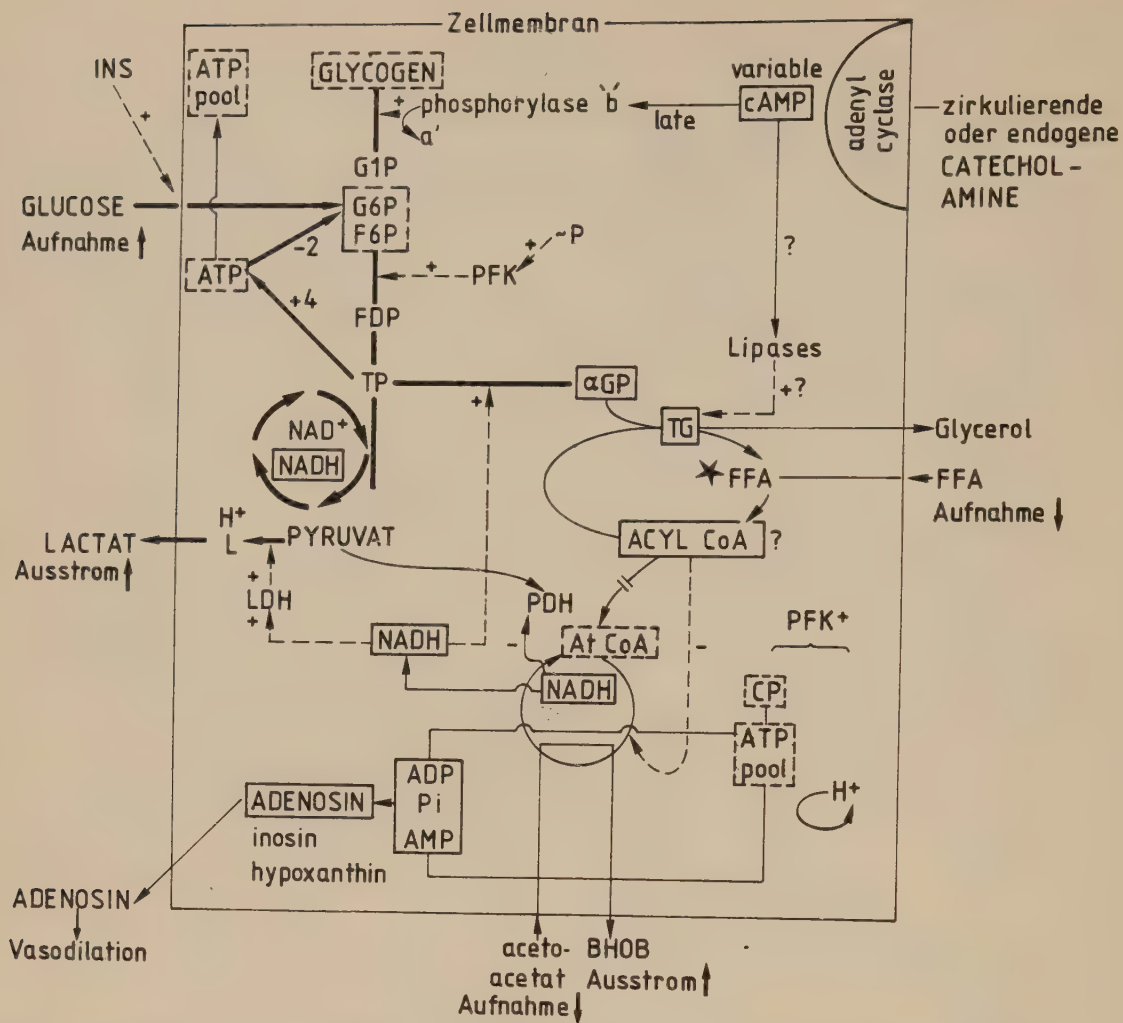


Abb. 3: Anoxie ohne Ischämie. Erklärung siehe Text und Literatur (17).
Abkürzungen siehe Abb. 2. Zitiert nach Opie (17).

spezifische Aktivität, die schlechte Bildqualität von J-131 und die hohe Strahlenbelastung durch die notwendigen hohen J-131-Dosen und die niedrige myokardiale Extraktion der Fettsäure, die durch die Markierung, ähnlich wie bei den anderen ungesättigten Fettsäuren an einer Doppelbindung zustande kam. POE et al. ersetzten 1975 (22) die mittelständig substituierte J-131-Stearinsäure durch die 16-J-131-Hexadecansäure, die in Versuchen am Hundeherzen im lebenden Organismus eine gegenüber der mittelständig jodierten Fettsäure mehr als doppelt so hohe Extraktionsrate zeigte. Der Markierungsprozeß ist auch durchführbar mit J-123, was eine hohe Dosierung der Aktivität

erlaubt (23,24). POE und Mitarb. erhielten mit der J-123-Hexadecansäure befriedigende Herzsintigramme mit einer Aufnahmezeit von 2-3 Minuten/Bild (23). POE hat darüber hinaus einen Vergleich zwischen der Jod-Hexadecansäure und der C-11-markierten Palmitinsäure durchgeführt. Es konnte eine Übereinstimmung der beiden Substanzen in ihrem kinetischen Verhalten im Herzen in den ersten 15 Minuten festgestellt werden (24). MACHULLA et al. (25) konnte in Tierexperimenten mit Verwendung der J-131-Heptadecansäure und der C-11-Palmitinsäure diese Resultate bestätigen. Die J-123-Heptadecansäure findet derzeit klinische Anwendung in der Herzdiagnostik von Patienten mit Kardiomyopathien und mit ischämisch und hypoxisch geschädigten Herzen.

Der große Nachteil der terminal-jodierten aliphatischen Fettsäuren ist der schnelle myokardiale Stoffwechsel und der daraus resultierende hohe Spiegel an Blutaktivität, der die Darstellung des Herzens und die Messung der Stoffwechselraten im Herzen stört. MACHULLA et al. (25) zeigte, daß die gesamte Blutaktivität auf katabolisch freigesetztem Jodid beruht. Das Problem der hohen Blutuntergrundaktivität wurde jedoch durch eine Blutuntergrundkorrektur gelöst (26), so daß es möglich ist, Herzbilder von hoher Qualität zu bekommen und auch eine regionale Bestimmung von Fettsäurestoffwechselraten im Herzen vorzunehmen. Von den genannten Substanzen hat sich daher die C-11-Palmitinsäure und die J-123-Heptadecansäure als sehr erfolgreich erwiesen für die klinische Anwendung der Herzdarstellung und neuerdings auch zur Quantifizierung von Fettsäurestoffwechselstörungen in geschädigten Herzmuskelbereichen (26,27,28,29,30,31,32,72,73).

1.3 Problemstellung

Der Nachteil der J-Heptadecansäure besteht darin, daß durch deren schnellen myokardialen Umsatz und der Entstehung freien Jodis, das zu einem hohen Blutuntergrund führt, die Bildqualität und die regionale myokardiale Quantifizierung von Fettsäurestoffwechselstörungen im Herzen negativ beeinflusst wird. Die Blutuntergrundkorrektur erfordert ein Rechensystem. Weiterhin ist bei der J-Heptadecansäure auch nicht der genaue Umsatz, die Pharmakokinetik und der Stoffwechsel der extrahierten Fettsäuren im Herzmuskel bekannt.

In diesem Zusammenhang stellt sich auch die Frage, inwieweit diese Probleme gelöst werden können, wenn statt einer physiologischen eine nicht-physiologische Fettsäure eingesetzt wird. Ausgehend von Untersuchungen von KNOOP et al. u.a. (33,34) muß erwartet werden, daß mit einer jodierten Phenyl-Fettsäure bessere Resultate erzielt werden können. KNOOP konnte demonstrieren, daß beim Stoffwechsel der geradzahligen und ungeradzahligen Phenyl-Fettsäuren durch die β -Oxidation die Endabbauprodukte Phenylelessigsäure und Benzoesäure entstehen. Nach Konjugation mit Glycin erscheinen Phenylacetursäure und Hippursäure im Harn. Es wurde erwartet, daß die Metaboliten der jodierten Phenyl-Fettsäure schneller durch die Niere eliminiert werden und damit die Untergrundaktivität stark verringert wird (siehe Abb. 4). Ein weiterer Vorteil für die jodierten Phenyl-Fettsäuren würde auch darin bestehen, daß sowohl das Radiopharmakon als auch die Metaboliten wahrscheinlich in vivo nicht de-jodiert werden.

Die Verlangsamung des Umsatzes dieser Fettsäure im Herzen und

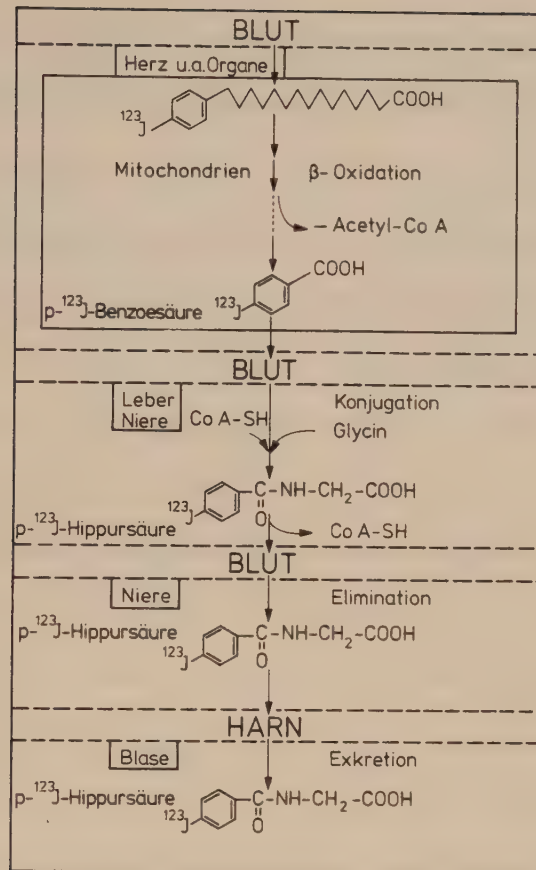


Abb. 4: Biochemisches Konzept der Verstoffwechselung und Elimination der ω -p-J-123-Phenylpentadecansäure und deren Kataboliten im tierischen Organismus

ein evtl. unterschiedlicher Einbau in den Intermediarstoffwechsel könnte große Bedeutung gewinnen für die szintigraphische Darstellung des Herzens und die externe Erfassung von Stoffwechselraten.

Ein Ziel der Arbeit wurde es auch, durch vergleichende Studien der ortho-J-131 bzw. der para-J-131-Phenyl-Pentadecansäure und der J-123-Heptadecansäure in Tierexperimenten zu klären, inwieweit sich die Phenylfettsäuren in ihrem metabolischen Verhalten von der J-123-Heptadecansäure, vorzugsweise im Herzen, unterscheiden.

Weiterhin wurde angestrebt, in Tierexperimenten zu klären, zu welchen Anteilen die verwendeten Fettsäuren in die verschiedenen Lipidfraktionen des Herzens eingebaut werden.

Auch sollte geklärt werden, ob durch die externe Messung einzelner radioaktiv markierter Fettsäuren im Herzen bei gesunden Probanden und bei herzkranken Patienten der Fettsäure-Metabolismus erfaßt werden kann.

2. Methoden

2.1. Radionuklid-Produktion, Synthese der markierten Fettsäuren, Qualitätskontrolle, Identifikation und Reinigung

Die in dieser Arbeit verwendeten Nuklide C-14, J-131 wurden bei der Firma Amersham Buchler bezogen. J-123 und Br-75 wurden in Jülich am Isochron-Cyclotron hergestellt. Die dabei verwendeten Kernreaktionen sind in Tabelle I zusammengefaßt. Die Tabelle II gibt eine Übersicht der Syntheseverfahren der in dieser Studie verwendeten Radiopharmaka wieder. Für die radioaktiv markierten Isomere der jodierten Phenylfettsäuren ergibt sich der zeitliche Ablauf ihrer radiochemischen Ausbeute aus Abb. 5. Die para-Br-75-Phenylpentadecansäure wurde nach den Methoden von STÖCKLIN et al. und MACHULLA et al. am Institut für Nuklearchemie in Jülich synthetisiert (35,36). Die radiopharmazeutische Qualitätskontrolle und Identifikation und Reinigung der J-Heptadecansäure und der jodierten Phenylfettsäuren wurden nach dem Verfahren von MACHULLA et al. durchgeführt (25,36). Die so dargestellten radioaktiven Fettsäuren zeigten eine hohe Lagerungs- und in-vivo-Stabilität. MACHULLA et al. führte auch die radiopharmazeutische Qualitätskontrolle, die Reinigung und die Identifikation der radioaktiv markierten Jodfettsäuren mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatographie durch (25,36).

Danach ergab sich für die jodierten Phenylfettsäuren ein radiochemischer Ertrag von 60 % der im Ansatz verwendeten Aktivität. Es wurde ein Isomerengemisch gefunden, das zu 29 % aus ortho-Jod-Phenylfettsäure und 71 % aus para-Jodphenylfettsäure besteht (Abb. 5). Die hohe Stabilität war dadurch gekennzeichnet, daß die markierten Produkte keine Jodidabspaltung zeigten, auch

Radio-nuklid	Target-material	Kernreaktion	Teilchen-energie MeV	Chem. Form	Lit.
^{75}Br	As-Cn	$^{75}\text{As} (^3\text{He}, 3n) \rightarrow ^{75}\text{Br}$	36	Br^-	35
^{123}J	Na J	$^{127}\text{J} (\text{d}, 6n) ^{123}\text{Xe} + \text{EC}, \rightarrow ^{123}\text{J}$	78	J^-	35

Tabelle 1: Kernreaktionen der in Jülich produzierten Isotope

Synthese der markierten Fettsäuren

Fettsäure	Radio-nuklid	Markierungsreaktion	Reaktionszeit (min)	Radiochem Ausbeute(%)	spez. Akt. (mCi/mg)	Lit.
17-J-Heptadecan-säure	J-123	J-gegen Br-Austausch in Aceton	120	50%	trägerfrei enthält pro mCi 0-0.1 mg Br-Fettsäure als nicht isotopenträger	35,36
15 (para-I-Phenyl)pentadecan-säure	J-131*	Jodid mit Phenylpentadecansäure in Glacial-essigsäure u. Schwefelsäuremischung	15	71%	nicht trägerfrei 900 Ci/mmol	35,36
15 (ortho-J-(Phenyl)pentadecan-säure	J-131*	"	15	29%	nicht trägerfrei 900 Ci/mmol	35,36
15 (para-Br-Phenyl)pentadecan-säure	Br-75	Br gegen H-Substitution mit 15-Phenylpentadecan-säure in Chloroform	10	90%	≥10 Ci/mmol	35,36

* Diese Methode ist auch anwendbar zur Markierung mit J-123

Tabelle 2: Radiochemische Synthese der verwendeten Fettsäuren.

wenn sie 120°C 30 Minuten ausgesetzt wurden.

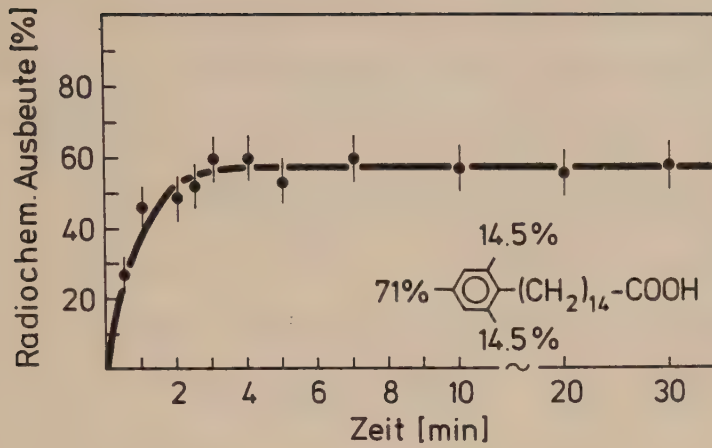


Abb. 5: Zeitlicher Aktivitätsverlauf der radiochemischen Ausbeute der jodierten Phenylpentadecansäureisomere.



a)



b)

Abb. 6: Strukturmodell der ω -I-123-Heptadecansäure (a) und der p-Br-75-Phenylpentadecansäure (b).

2.2. Herstellung der Injektionslösung

Da langkettige Fettsäuren im Wasser sehr schlecht löslich sind, wurde in Tierexperimenten Serumalbumin als Lösungsvermittler gewählt (37). Hierbei wurde die jeweilige Fettsäure in wenig Äthanol gelöst und zur Albuminlösung zugegeben (25,38,39). Es wurde zunächst bei den Mäuseversuchen die Fettsäure in 0,1 ml - 0,15 ml 96%igem Alkohol aufgenommen und die äthanolische Lösung langsam unter Schütteln in 1,5 ml - 2 ml 4%igem (mit 0,9% NaCl verdünnt) Serumalbumin eingetropft, das vorher durch Millipore-Filtration (Milex-Filtereinheit mit einem Porendurchmesser von 0,22 μ m) gereinigt wurde. Auch nach Zugabe der äthanolischen Fettsäurelösung wurde filtriert. Die filtrierte Albuminlösung enthielt 68 ± 5 % der zur Lösung angesetzten Fettsäure-Aktivität. Die Analysen des unbehandelten Serumalbumins und des Albumins des Fettsäuren-Lösungsmittels durch die Ultrazentrifuge zeigten, daß durch den Äthanolzusatz die polymere Fraktion des Produkts nicht erhöht wurde (35). Handelsübliches Humanserumalbumin, wie es zur Lösung der radioaktiv markierten Fettsäuren eingesetzt wurde, enthält pro mol Albumin 0,4 - 2,5 mol Fettsäure (40), das sind etwa 0,1 - 0,5 mg Fettsäure in 1 ml 5%iger Serumalbuminlösung. Die Radiohalogenfettsäuren enthielten daher pro injizierter Dosis 0-50 mg Fettsäure als Nicht-Isotopen-Träger.

Bei den Patientenmessungen und den Kaninchenversuchen wurde nach Blutentnahme 2 - 5 ml Serum mit einer entsprechenden Fettsäureaktivität (normalerweise 1 - 2 mCi) versetzt. Die Fettsäureaktivität wurde nach Eindampfen einer alkoholischen Fettsäurelösung (siehe oben) erhalten und anschließend unter langsa-

mer Rotation (20 Minuten) in einem Glaskolben nach Zugabe von Patienten- oder Kaninchen-Serum gelöst und nach Sterilisation durch Millipore-Filtration sofort intravenös appliziert (der Ertrag der Fettsäure-Aktivität nach Filtration war, wie oben angegeben).

Zur Herstellung einer Injektionslösung mit ^{14}C -Benzoessäure wurde 0,9%ige physiologische NaCl-Lösung verwandt. 0,1 - 0,2 ml der injizierten Lösung enthielt durchschnittlich 1 - 2 μCi der verwendeten Aktivität.

2.3. Mäuseversuche

2.3.1. Aktivitätsverteilung in verschiedenen Organen

Alle Versuche wurden an weiblichen NMRI-Albinomäusen durchgeführt, die 24-36 g schwer waren. Vor und während der Versuche hatten die Tiere freien Zugang zu Futter und Wasser. 1-1,5 μCi der para-J-131-Phenylpentadecansäure oder der ω -J-131-Heptadecansäure in 0,1-0,2 ml der Injektionslösung wurden in die Schwanzvene injiziert. 0,25, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0, 3,5, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0, 35,0 Minuten p.i. (im Falle der Injektion der ^{14}C -Benzoessäure 1,0 Minuten p.i.) nach Beendigung der Injektion wurden die Tiere ohne vorherige Betäubung getötet und anschließend seziiert. Es wurden sofort das Herz (als alleiniges Zielorgan im Falle der J-Heptadecansäure), Blut aus dem Brustkorb, unmittelbar danach Lunge, Leber, Niere, Magen, Darm und Fettgewebe entnommen. Die Organe wurden mit physiologischer Kochsalzlösung gespült, trockengetupft, gewogen und die Aktivität/Organ im Tricarb-Gamma-Zähler gemessen (^{14}C im Flüssigkeits-Szintillationszähler) und der prozentuale Aktivi-

tätsanteil der einzelnen Organe und des Blutes an der injizierten Gesamtaktivität/Organ und pro g Gewebe oder Blut bestimmt.

2.3.2 Herzanalysen

Trennung in organische und wasserlösliche Aktivität

Für die biochemischen Verteilungsanalysen im Myokard wurden die Herzen 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0, 3,5, 5,0, 7,0, 10,0, 15,0 und 30 Minuten nach Injektion der para-J-131-Phenylpentadecansäure und der ω -J-131-Heptadecansäure weiblichen NMRI-Mäusen entnommen, die Gesamt-Aktivität bestimmt, die Herzen in einem Homogenisator (nach POTTER & ELVEHJEN) (41) mit 2 ml Chloroform/Methanol (2:1) zerkleinert und nach Überführung in einem Zentrifugenglas sofort mit 0,65 ml 0,02n H_2SO_4 + 0,65 ml einer 40%igen wässrigen Harnstofflösung versetzt. Die Mischung wurde 1 Minute geschüttelt und 20 Minuten zentrifugiert (RBN = 3000), wobei sich die Gewebereste an der Phasengrenze absetzen. Die obere Phase war die wässrige und die untere die organische Phase. Beide Phasen wurden getrennt und der Geweberest noch einmal der gleichen Prozedur unterzogen, um eine maximale Extraktion der Lipid-gebundenen Aktivität in der organischen Phase zu erreichen. Die Aktivität in der organischen und wässrigen Phase und im Gewebsrest wurde im TriCarb-Gammazähler bestimmt und der Aktivitätsanteil der einzelnen Phasen in % der Herzaktivität und in % der der Maus injizierten Aktivität/Gesamtherz und pro g Gewebe berechnet. Die Aktivität nach Fraktionierung in die einzelnen Phasen betrug bei 5 Messungen $77 \% \pm 5,4\%$, bezogen auf die vorhandene Aktivität im Herzen vor der Fraktionierung.

Kontrollversuche

- 1 mCi Na-Iodid- ^{131}I , ^{14}C -Benzoësäure, ortho-J- ^{131}I -Hippursäure, als mögliche Kataboliten der J- ^{131}I -Heptadecansäure und der

% Aktivitätsverteilung in verschiedenen Fraktionen, extrahiert aus den Mäuseherzen.			
Markierte Substanzen	Organische Phase	Wässrige Phase	Gewebe-rest
Glycerol tri (9,10(n)- ^3H) palmitat	88.4	4.1	7.4
Phosphatidyl (N-methyl- ^{14}C) cholin ,dipalmitoyl	78.8	1.0	20.1
(1- ^{14}C) Stearoyl-CoA	5.1	1.4	93.5
(1- ^{14}C) Acetyl-CoA	31.1	8.1	60.8
ω - (p- ^{131}I -Phenyl)-pentadecansäure	90.5	6.0	3.5
ω - ^{131}I -Heptadecansäure	94.0	5.0	1.0
(Carboxyl- ^{14}C) Benzoësäure	82.8	8.5	8.7
^{131}I	2.0	95.0	3.0
^{131}I -Hippursäure	2.0	96.0	1.0

Tabelle 3:

J- ^{131}I -Phenylpentadecansäure wurden jeweils einzeln 5 isolierten Mäuseherzen dazugegeben und diese, wie oben beschrieben, aufgearbeitet. Anschließend wurde der Prozentanteil der Radioaktivität in der wässrigen und der organischen Phase und im Gewebsrest in 5 Ansätzen (s. Tabelle 3) in einem TriCarb-Gammazähler bzw. Flüssigkeits-Szintillationszähler gemessen.

- Um zu prüfen, wie sich einzelne Lipide und Fettsäure-CoA-Conjugate unter den Bedingungen der Extraktions-Methode verhalten und sich in den einzelnen Phasen und dem Gewebsrest verteilen, wurden von der Firma Amersham Buchler bezogene Substanzen, wie Glycerol-Tri(9,10(n)- ^3H) Palmitat; Phosphatityl (n-Methyl- ^{14}C) Cholin, Dipalmitoyl; (1- ^{14}C) Stearoyl-CoA; (1- ^{14}C) Acetyl-CoA jeweils einzeln 5 isolier-

ten Mäuseherzen dazugegeben und die prozentuale Aktivitäts-Verteilung nach der Durchführung der oben angegebenen Extraktionsmethode mit Hilfe eines Flüssigkeits-Szintillationsmessers nach Hinzugabe eines ^3H - oder ^{14}C -Standards (der als Grundlage zur Berechnung und Korrektur einer Absorption von ^{14}C - und ^3H -Aktivität in den einzelnen Proben diente) gemessen. Die Ergebnisse sieht man in Tabelle 3.

2.3.3. Dünnschichtchromatographische Auftrennung der organischen Phase

Die organischen Phasen der Herzgewebe-Extraktion wurden im Wasser- oder Rotations-Verdampfer auf 0,5 ml eingeeengt. Die eingeeengte organische Lösung wurde dünnschichtchromatographisch nach MALIN & MANGOLD (42) auf Kieselgel-F254-Alufolie, Schichtdicke 0,2 mm (Merck, Darmstadt) 20x18 cm aufgetrennt. Es wurden jeweils 30-50 μl der organischen Lösung punktförmig aufgetragen und die gleiche Menge als Aliquot gemessen. Als Vergleichssubstanzen wurden inaktive para-J-Phenylpentadecansäure, bzw. im Falle der J-Heptadecansäureanalysen 17-Brom-Heptadecansäure (EMKA-Chemie), Erdnußöl DAB-7 für den Anteil der Triglyceride, Lecithin (Merck, Darmstadt) als Referenzsubstanz für die Phospholipide und para-J-Benzoesäure (BA) im Falle der J-Phenylpentadecansäure-Analyse mitgetrennt.

Erdnußöl DAB-7, das vorwiegend aus Triglyceriden besteht, und Lecithin als Phospholipid-Referenz wurden als Lipid-Standard-Substanzen gewählt, da über 96% der myokardialen Glycerid-Ester nach Injektion von Fettsäuren in Form von Triglyceriden und über 70% der myokardialen Phospholipide in Form von Lecithin gefunden wurden (43). Als Laufmittel diente N-Heptan-Diäthyl-

äther-Eisessig 90+10+1 und als Sprühreagenz Rhodamin B 0,05% (Merck) in Äthanol. Unter UV-Licht ($\Delta = 254 \text{ nm}$) waren Triglyceride, Fettsäuren und Phospholipide und Benzoesäure als rosa bis violette Flecken gut sichtbar auf der Dünnschichtfolie. Die folgenden RF-Werte wurden erhalten: ($\bar{x} \pm \text{SD}$; $n = 8$); $\text{TG} = 0,41 \pm 0,04$; $\text{FFA} = 0.18 \pm 0,02$; $\text{BA} = 0,09 \pm 0,02$; $\text{PL} = 0$. Der RF-Wert war bei den Fettsäuren kleiner als bei den Triglyceriden. Lecithin zeigte keine Elution. Der RF-Wert für die Benzoesäure befand sich zwischen den Fettsäuren und dem Lecithin. Alle ermittelten Flecken wurden ausgeschnitten, im TriCarb-Gammazähler zusammen mit den jeweiligen Aliquots der aufgetretenen Lösung ausgemessen und der Prozentanteil der einzelnen Flecken an der aufgetrennten Aktivität auf der TLC-Folie berechnet und anschließend als Prozentanteil der injizierten Aktivität/g Herz bestimmt. Durchschnittlich wurden $85,6 \pm 0,4\%$ ($\bar{x} \pm \text{SD}$; $n = 6$) der aufgetragenen J-131-Aktivität auf der TLC-Folie in den Flecken wiedergefunden, verglichen mit einem Aliquot der aufgetrennten Lösung. Zur Kontrolle dieser Ergebnisse wurden radioaktiv markierte Substanzen wie Glycerol-Tri(9,10(n)- ^3H)Palmitat, Phosphatidyl (n-Methyl- ^{14}C)Cholin, Dipalmitoyl, para- ^{131}J -Phenyl-Pentadecansäure, Na ^{131}J , ^{131}J -Heptadecansäure und (Carboxyl- ^{14}C)-Benzoesäure einzeln isolierten Mäuseherzen dazugeben und diese Mischung nach der oben angegebenen Extraktionsmethode in organische und wässrige Phasen getrennt. Nach Eindampfung der organischen Phase und Entnahme eines entsprechenden Aliquots wurden 30-60 μl auf der TLC-Folie aufgetragen zusammen mit den oben angegebenen Standardsubstanzen. Nach der Auftrennung auf der TLC-Folie wurden über 90% der aufgetragenen Aktivität der einzelnen Kontrollsubstanzen in ihren dazugehö-

rigen Flecken wiederentdeckt, Dies wurde ermöglicht durch die Verwendung eines Dünnschicht-Scanners mit Multi-Kanal-Analysator, Radiometer und Schreiber.

Weiter wurden auch einzelne TLC-Läufe nach der Injektion von para- ^{131}J -Phenylpentadecansäure und ^{131}J -Heptadecansäure in Mäusen und nach Aufarbeitung des Mäuseherzens (siehe oben) mit Hilfe dieses DC-Scanners kontrolliert und mit den Werten, die nach Ausschneiden der Flecken im Bohrloch erhalten wurden, verglichen. Es ergaben sich identische Aktivitätsverteilungen bzw. Ansammlungen mit den beiden Methoden.

2.4. Kaninchenversuche

Die in diesen Versuchen verwendeten Tiere waren ein Jahr alt und wogen im Durchschnitt 2,5 kg. Die Tiere hatten freien Zugang zu Futter und Wasser während der Versuche. 0,5-1 mCi para- ^{123}J -Phenylpentadecansäure, ortho- ^{131}J -Phenylpentadecansäure und ^{123}J -Heptadecansäure wurden in 2-5 ml Kaninchenserum gelöst. Insgesamt 18 Kaninchen wurden nach Injektion von para-J-Phenylpentadecansäure, ortho-J-Phenylpentadecansäure und J-Heptadecansäure 9 Minuten p.i. getötet und der prozentuale Anteil der Aktivitätsansammlung an der injizierten Gesamtaktivität im Blut, im Herzen, in der Leber und in der Lunge in einem Szintillationszähler, bezogen auf 1 g des Gewebes, bestimmt.

Die szintigraphische Darstellung der Aktivitätsverteilung in 8 Kaninchen wurde registriert mit einer Gamma-Kamera, verbunden mit einem Pin-Hole-Kollimator in p.a.- und lateraler Projektion. Die Sequenz-Szintigraphie wurde mit einer Bildrate von einem Bild/20 Sekunden durchgeführt. Die gesamte Meßzeit betrug 40 Minuten. Aus interessierenden Regionen (ROI) über Lunge, Herz,

Leber wurden Zeit-Aktivitäts-Kurven ermittelt. Für die Blut-Untergrund-Korrektur wurde die Methode von RICHIE et al. angewandt (44). Die so erhaltenen korrigierten Zeit-Aktivitäts-Kurven über dem Herzen des Kaninchens wurden halblogarithmisch aufgetragen und die Eliminations-Halbwertszeiten bestimmt.

2.5. Patientenuntersuchungen

Für die Patientenuntersuchungen wurden 1-2 mCi para- ^{123}J -Phenylpentadecansäure, para-Brom-75-Phenylpentadecansäure und ω -J-123-Heptadecansäure in 2 ml Patientenserum gelöst und durch Millipore-Filtration sterilisiert und dem Probanden anschließend intravenös injiziert.

Die Patienten wurden bei der Messung mit der ^{123}J -Heptadecansäure und der para- ^{123}J -Phenylpentadecansäure unter dem Kopf der Anger-Szintillations-Kamera platziert. In der Regel wurden entweder A.P.- oder LAO-Projektionen angewandt. Gleichzeitig mit der Injektion von para- ^{123}J -Phenylpentadecansäure oder der ω -J-123-Heptadecansäure begann die Registrierung. Um die räumliche Aussage zu verbessern, wurden die Daten bei der Verwendung der J-123-Heptadecansäure in Form einer dynamischen EKG-getriggerten Studie aufgenommen. Die Gesamt-Aufnahmezeit betrug 40-50 Minuten. Für die myokardiale Szintigraphie wurden in der Regel 800.000 Counts/Minute gesammelt. Die Aufnahme begann 7-10 Minuten p.i. Bei den dynamischen Studien wurden die Daten in List mode aufgenommen und mit einem speziellen Computer-Programm weiterverarbeitet. Die Korrektions-Methode für freies J-123 im Falle der Untersuchungen mit der Jod-Heptadecansäure wurde in Anlehnung der Methode von FREUNDLIEB et al. angewandt (26). Außerdem wurden Zeit-Aktivitäts-Kurven bei der Ver-

wendung der para-J-123-Phenylpentadecansäure und der ω -J-123-Heptadecansäure über verschiedenen Abschnitten des Herzens bestimmt und die Halbwertszeiten der Indikator-Elimination aus dem Herzen berechnet.

Bei den Untersuchungen mit der ω -J-123-Heptadecansäure wurden 5 weibliche und 16 männliche Patienten im Alter von 29-84 Jahren in 3 Gruppen eingeteilt:

Gruppe I bestand aus 5 Personen, die keine klinischen Anzeichen einer Herzerkrankung aufwiesen.

Gruppe II bestand aus 10 Patienten mit koronarer Herzkrankheit. Der Grad der Stenose wurde mit der Koronar-Angiographie bestimmt und war 50% oder mehr in wenigstens einem Gefäß. 4 von diesen Patienten hatten einen Herzinfarkt vor 1-9 Jahren durchgemacht.

Gruppe III schloß 3 Patienten mit einer kongestiven Kardiomyopathie unterschiedlicher Genese ein.

Um die Aufnahme von freiem ^{123}J im Falle der J-Heptadecansäure in der Schilddrüse zu vermeiden, wurden 500 mg Na-Perchlorat oral 30 Minuten vor der Injektion von ^{123}J -Heptadecansäure appliziert.

Bei den Patienten-Untersuchungen mit der para-J-123-Phenylpentadecansäure wurde ein 46jähriger Patient untersucht, der in der Koronarangiographie keine deutliche Veränderung an den Koronargefäßen zeigte und nur eine gering eingeschränkte Ventrikelfunktion unklarer Ätiologie in der Lärökardiographie aufwies. Anamnestisch bestand kein Anhalt für eine Angina pectoris oder für einen durchgemachten Herzinfarkt.

Bei einem anderen, 57jährigen Patienten bestand eine koronare Herzerkrankung mit Angina pectoris und ein 1 Jahr alter Hinterwandinfarkt. Es zeigte sich in der Koronarangiographie eine kalzifizierte, hochgradige koronare Dreigefäßerkrankung mit maximalen Verschlüssen des Ramus descendus anterior und der rechten Kranzarterie sowie einer hochgradigen Stenose des Ramus circumflexus nach Abgang des marginalen Astes, weiterhin eine deutlich eingeschränkte Ventrikelfunktion durch eine hochgradige Hypo- bis Akinase der Hinterwand bei gleichzeitiger Hypokinesie der Vorderwand in der Lävokardiographie.

Bei der Messung von 3 männlichen Personen mit der Positronen-Emissions-Tomographie-Kamera wurden 2 mCi para-Br-75-Phenylpentadecansäure i.v. injiziert. Die Untersuchungen erfolgten in Höhe des 5. ICR mit dem Transaxial-Positronen-Tomographen. Die Szintigramme wurden mit einer Bilderfrequenz von einem Bild/2 Minuten durchgeführt. Anamnestisch war bei diesen Personen keine Angina pectoris und kein Herzinfarkt bekannt.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1. Mäuseversuche

3.1.1. Aktivitätsverlauf im Blut

Nach i.v.-Injektion der radioaktiv markierten Fettsäure ω -para-J-131-Phenylpentadecansäure wurde in kurzen Abständen der Blut-Aktivitätsspiegel gemessen (siehe Methoden zu den Mäuseversuchen). Der Blutaktivitätsspiegel (Abb. 7) der para-J-Phenylpentadecansäure sinkt innerhalb der ersten 2 Minuten rasch mit einer Halbwertszeit von 1,5 Min. auf 1.3 % der injizierten Dosis/g Blut ab. Dieser schnellen Eliminationsphase folgt ein leichtes Ansteigen der Blutaktivität bis auf ca. 2% der injizierten Dosis/g Blut 5 Minuten p.i. Dieser erneute Aktivitätsanstieg wird vermutlich, ähnlich, wie es für die J-Heptadecansäure beschrieben wurde (25,33), durch den Rückfluß von Metaboliten der para-J-Phenylpentadecansäure aus dem Herzen, der Leber und den anderen Fettsäuren verbrauchenden Organe verursacht.

Im Vergleich zu der ω -J-Heptadecansäure und zur ^{11}C -Palmitinsäure (Abb. 8) nimmt die para-J-Phenylpentadecansäure einen mittleren Blut-Aktivitäts-Verlauf ein. Der Blutspiegel der injizierten para-J-Phenylfettsäure-Aktivität sinkt weiter ab als der der J-Heptadecansäure, was sich besonders in den ersten 2-4 Minuten und nach 7 Minuten p.i. zeigt. Der Unterschied beträgt 1,5-2% der injizierten Dosis/g Blut. Die ^{11}C -Palmitinsäure erreicht nach anfänglich gleichem Blutaktivitätsverlauf wie die para-J-Phenylpentadecansäure einen niedrigeren Aktivitätsspiegel mit 0,5 % der injizierten Dosis/g Blut 5 Minuten p.i., während der Blut-Aktivitätsverlauf der para-J-Phenylpen-

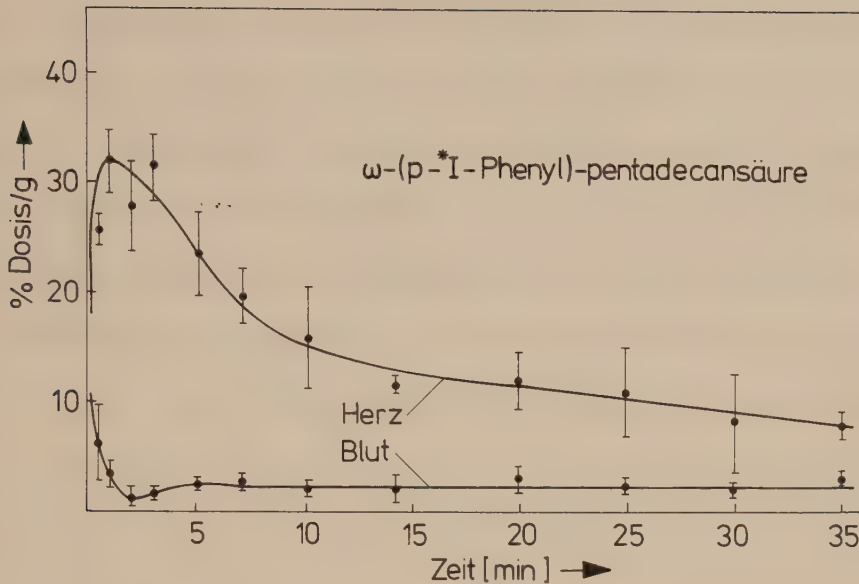


Abb. 7: Aktivitätsverlauf im Blut und im Herzen von NMRI-Mäusen nach i.v.-Injektion von 0,1-0,2 μCi ω -(p- ^{123}I -Phenyl)-pentadecansäure in 0,1 bis 0,25 ml 5% HSA-Lösung

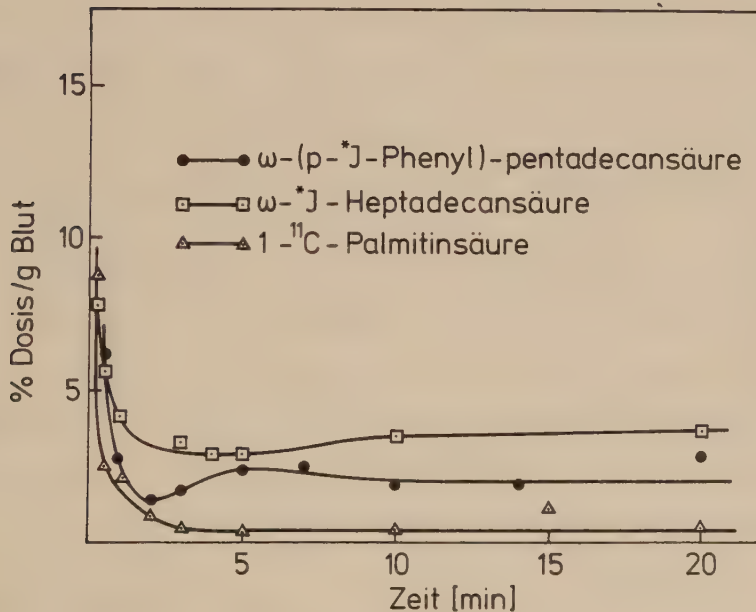


Abb. 8: Aktivitätsverlauf im Blut von NMRI-Mäusen nach i.v.-Injektion von 0,1-0,2 μCi ω -(p- ^{123}I -Phenyl)pentadecansäure, ω - ^{131}I -Heptadecansäure (25) und 1- ^{11}C -Palmitinsäure (25) in 0,1 bis 0,25 ml 5%iger HSA-Lösung (Fehler s. Tab. 9, Anhang u. Literatur (25))

taDECansäure durch den oben angegebenen Anstieg auf 2% der injizierten Dosis/g Blut gekennzeichnet ist.

Abgesehen von dem unterschiedlichen Verhalten der Blut-Aktivitäts-Spiegel der drei Fettsäuren zu späteren Zeitpunkten werden sie alle in den ersten 2 Minuten zum größten Teil aus dem Blut eliminiert. Die Eliminations-Phase der para-J-Phenylfettsäure und auch der anderen oben beschriebenen Fettsäuren aus dem Blut wird bestimmt durch einen biexponentiellen Verlauf.

Die kurzen Bluteliminations-Halbwertszeiten der Metaboliten der para-J-Phenylpentadecansäure, para-J-Benzoesäure und para-J-Hippursäure (45), bewirken vermutlich einen niedrigeren Blutaktivitäts-Verlauf im Vergleich zur J-Heptadecansäure, bei der nach Untersuchung (25) hauptsächlich freies Jodid als endgültiger Katabolit in das Blut gelangt und dort eine längere Bluteliminations-Halbwertszeit von ca. 5,5 Stunden hat. Außerdem wird Jodid von anderen Organen extrahiert und gespeichert, wie z.B. in der Schilddrüse, den Speicheldrüsen, dem Magen, den Brustdrüsen und anderen Organen, und anschließend dem Blut wieder zugeführt. Dies hat einen hohen Blutaktivitätsspiegel im Vergleich zum Stoffwechsel der para-J-Phenylpentadecansäure zur Folge, deren jodierte Endprodukte Benzoessäure und Hippurat eine Blut-Halbwertszeit von ca. 20 Minuten haben (45).

Die ^{11}C -Palmitinsäure wird demgegenüber größtenteils via β -Oxidation und Citratzyklus zu $^{11}\text{CO}_2$ und H_2O verstoffwechselt (7,14,25). Das $^{11}\text{C O}_2$ diffundiert schnell aus der Zelle heraus und wird über das Blut abtransportiert und durch die Lunge schnell abgeatmet (7,14,25). So ist ihr niedriger Blut-Aktivitätsspiegel zu späteren Zeitpunkten p.i. verständlich.

Die Unterschiede in den Eliminations-Halbwertszeiten der Fettsäuren aus dem Blut, die zwischen Mensch, Ratte, Maus und Kaninchen bestehen, können nicht auf eine unterschiedliche Extraktionsfähigkeit der Organe dieser Spezies zurückgeführt werden (6). Der grundlegende Unterschied liegt im Verhältnis des Herz-Minuten-Volumens zum Blutvolumen. Das Herzminutenvolumen ($HZV = HF \cdot SV$) ist beim Menschen ungefähr so groß wie das Blutvolumen, bei der Ratte aber ca. 6 mal und bei der Maus ca. 10 mal größer (46). Von diesen Voraussetzungen ausgehend beträgt die Halbwertszeit der Blutfettsäuren bei der Maus 0,2 Minuten bis ca. 0,4 Minuten (beim Menschen 2 bis 4,6 Minuten (2)). Diese Schlußfolgerung unterstützen auch tierexperimentelle Untersuchungen (7), in denen gezeigt worden ist, daß die Eliminations-Halbwertszeit der Albumin-gebundenen Fettsäuren bei der Maus kleiner als 0,3 Minuten ist. Dies bedeutet, daß schon 0,25 Minuten nach Beendigung der Injektion, die selbst 0,25 Minuten bis 0,3 Minuten dauert, die Fettsäure-gebundene Aktivität nur 8-15%/g Blut der injizierten Aktivität betragen kann. Nach einer Minute muß der Aktivitätsspiegel auf 2,5%/g Blut abgesunken sein und nach 1,5 Minuten bereits unter 1%/g Blut liegen.

Bekanntlich werden die ungeradzahligen Phenylfettsäuren in den Fettsäure-oxidierenden Organen zu Benzoesäure katabolisiert (33,34). Diese gelangt über das Blut im Menschen mit einer Halbwertszeit von ca. 20 Minuten (43) in die Leber und in die Niere. Dort wird Benzoesäure hauptsächlich schnell (45) mit Hilfe von Glycin und Coenzym A (43,50) zu Hippurat umgesetzt (51,52). Hippurat gelangt aus der Leber und der Niere wiederum

in das Blut, wo diese Substanz eine Halbwertszeit von ca. 20 Minuten (45) hat und wird dann mit einer hohen renalen Clearance (45) in den Harn ausgeschieden. Wir nehmen diesen Stoffwechsel auch für die jodierten Phenylfettsäuren an, zumal die jodierten Kataboliten Jodbenzoesäure und Jodhippursäure das gleiche oder ein ähnliches Blut-Eliminationsverhalten zeigen (53,54,55). Die para-jodierte Benzoesäure wird im Vergleich zur ortho-jodierten Benzoesäure fast ausschließlich zur para-J-Hippursäure in Leber und Niere umgesetzt und nur ein kleiner Teil mit Glucuronsäure verbunden (53,54,55).

Der oben erwähnte Anstieg der Blutaktivität zu späteren Zeitpunkten der para-J-Phenylpentadecansäure ist daher vermutlich bedingt durch den Rückfluß von Kataboliten der para-J-Phenylpentadecansäure aus den Fettsäure-verbrauchenden Organen in das Blut. Der Anstieg der Blutaktivität nach 2-4 Minuten p.i. macht dies verständlich (Abb. 8). Zu dieser Zeit ist die Akkumulation von Fettsäuren-gebundener Aktivität im Herzen am höchsten (Abb. 7), und es beginnt jetzt hauptsächlich die Elimination der Stoffwechsel-Abbauprodukte der para-J-Phenylpentadecansäure aus dem Herzen in Form der para-J-Benzoesäure (siehe auch Herzanalysen), gekennzeichnet an dem raschen Abfall der Aktivitätskurve des Herzens. Auch die Leber und die Niere zeigen innerhalb von 2-7 Minuten p.i. die höchste Aktivitäts-Akkumulation (siehe Aktivitätsverteilung in der Leber und der Niere). Von anderen Organen außer der Leber und der Niere wird insbesondere Hippurat nur schlecht aufgenommen und verteilt sich deshalb fast ausschließlich im Blutraum oder wird schnell über die Niere in den Harn ausgeschieden (51,57,58).

Vergleicht man nun die Elimination der para-J-Phenylpentadecansäure und der ^{11}C -Palmitinsäure aus dem Blut miteinander, so erfüllt die ^{11}C -Palmitinsäure die Blutaktivitäts-Akkumulations-Forderung nach einer Zeit von 1,5 Minuten p.i. (siehe oben). Sie sinkt deutlich auf einen Aktivitätsspiegel unter 0,5% der injizierten Dosis/g Blut 2 Minuten p.i. im Blut ab.

3.1.2. Aktivitätsverlauf im Magen

Die Anreicherung von Radioaktivität im Magen ist ein sensibler Indikator für freies Jodid nach i.v.-Injektion von radioaktiv jodierten Substanzen, die im Organismus durch Stoffwechselprozesse dejodiert werden (59). Abb. 9 repräsentiert die Magen-Zeit-Aktivitäts-Kurve nach i.v.-Injektion von para-J-131-Phenylpentadecansäure, 16-J-123-Palmitinsäure und 2-J-123-Stearinsäure (39). Nach i.v.-Injektion von para-J-Phenylpentadecansäure bildet sich nach einem kleinen anfänglichen Aktivitätsanstieg auf 0,5% der injizierten Dosis/Magen ein Plateau, das bis 34 Minuten p.i. konstant bleibt (Abb. 9). Im Gegensatz dazu konnte bei der 16-J-123-Palmitinsäure und der 2-J-123-Stearinsäure 30 Minuten p.i. die 25-40-fach höhere Aktivitätsanreicherung als bei der para-J-Phenylpentadecansäure beobachtet werden.

Diese hohe Aktivität wurde erklärt durch Anreicherung von freiem radioaktivem Jodid nach Dehalogenisierung der Stoffwechselprodukte der Muttersubstanzen (39). Der geringe Anteil an Aktivität nach i.v.-Injektion von para-J-131-Phenylpentadecansäure ist wahrscheinlich einerseits durch die im Magen stattfindende, sehr geringe Fettsäureoxidation bedingt, andererseits muß auch mit der Verteilung der Metaboliten der para-J-Phenylpentade-

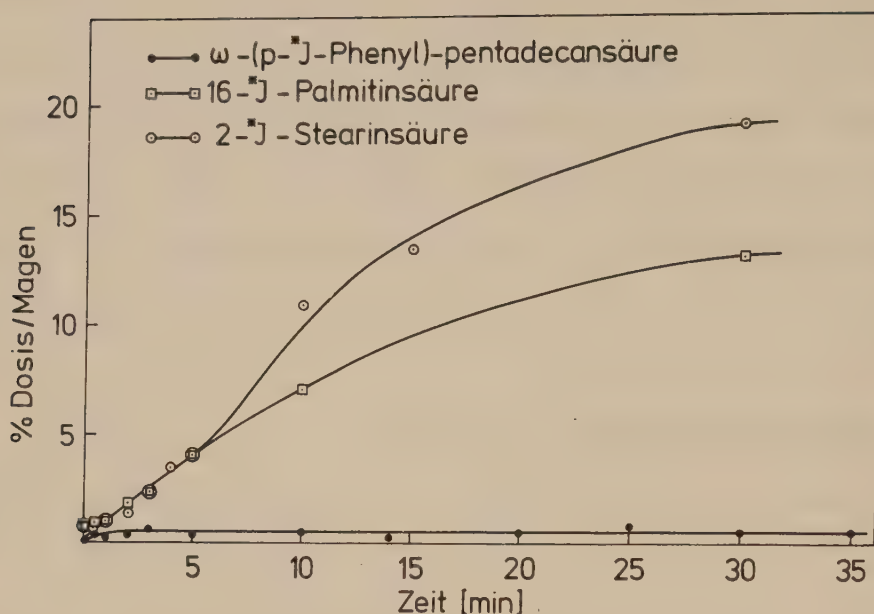


Abb. 9: Aktivitätsverlauf im Magen von NMRI-Mäusen nach intravenöser Injektion von 0,1-0,2 μCi ω -p-¹²³J-Phenyl)-pentadecansäure, 16-¹³¹J-Palmitinsäure (39) und 2-¹³¹J-Stearinsäure (39) in 0,1 bis 0,25 ml 5%iger HSA-Lösung (Fehler s. Tab. 9, Anhang und Literatur 39)).

cansäure, para-¹²³J-Benzoesäure und para-¹²³J-Hippursäure, im Magen-gewebe gerechnet werden.

Die fehlende Dehalogenisierung am Phenylring der para-¹²³J-Phenylpentadecansäure wurde auch durch frühere Untersuchungen festgestellt (60). In diesen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß das Jodatome am Phenylring der Hippursäure sich in einer festen organischen Verbindung befindet (60), so daß freies radioaktives Jodid nicht abgespalten werden kann. Diese Feststellung stimmt mit der Beobachtung überein, daß bei der Messung der Aktivitätsverteilung des Jodids im Kaninchen mit Hilfe einer Gamma-Kamera keine Aktivitäts-Anreicherung nach i.v.-Applikation von para-¹²³J-Phenylpentadecansäure in der Schilddrüse und im Magen über einen Zeitraum von 5-10 Stunden p.i. festgestellt werden konnte (s. Kapitel Kaninchenversuche).

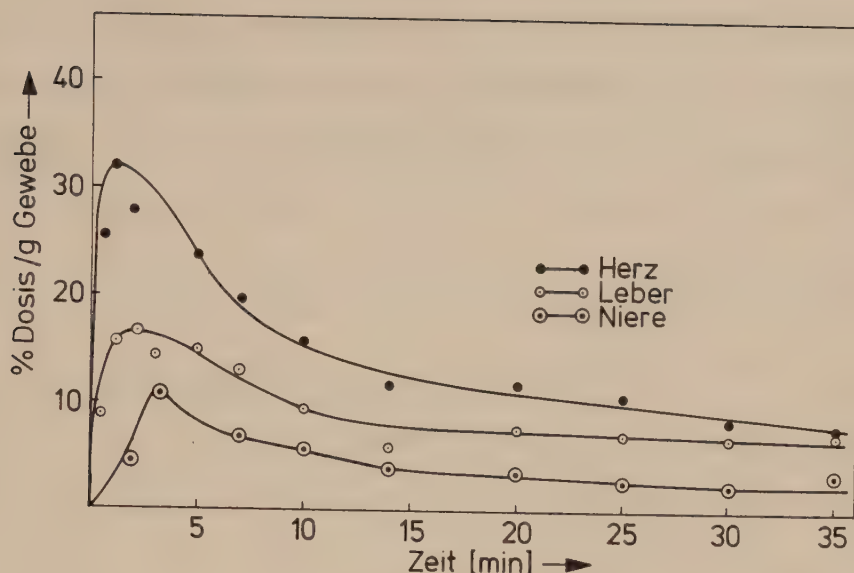


Abb. 10: Aktivitätsverlauf im Herzen, in der Leber, in der Niere von NMRJ-Mäusen nach i.v.-Injektion von 0,1-0,2 μCi ω -(p-J-131-Phenyl)pentadecansäure in 0,1 bis 0,25 ml 5%iger HSA-Lösung (Fehler s. Tab. 9, Anhang).

So führt weder die Verstoffwechselung der para-J-Phenylpentadecansäure noch die Umsetzung ihres oxidativen Endprodukts J-Benzoesäure zu para-J-Hippursäure in der Niere und in der Leber zur Abspaltung von freiem radioaktivem Jodid. Deshalb braucht auch bei Anwendung der para-J-Phenylpentadecansäure in vivo die Schilddrüse nicht mit Perchlorat blockiert zu werden.

3.1.3. Aktivitätsverlauf in der Leber

Im Gegensatz zum Herzen wird in der Leber nur ein kleiner Teil der aufgenommenen Fettsäuren direkt oxidiert. Der größte Teil wird zunächst zur Synthese von Triglyceriden, Phospholipiden und Chloesterinestern verwandt und dann in dieser Form entweder abgelagert oder nach Bindung an Lipoproteine an das Blut abge-

geben. Im Falle der para-J-Phenylpentadecansäure wird nun in der Leber das Endprodukt der β -Oxidation (33,34), die para-J-Benzoesäure zu para-J-Hippursäure konjugiert. Dies geschieht in einem schnellen Umsetzungsprozess mit Glycin und Coenzym A (43,50).

Nach i.v.-Injektion kommt es in der Leber (Abb. 10) zu einem initialen raschen Anstieg der Aktivität mit einem Maximum von 17.1% der injizierten Dosis/g Leber 2 Minuten p.i. Danach erfolgt eine biexponentielle Aktivitätsabnahme bis auf ca. 7% der injizierten Dosis/g Leber 35 Minuten p.i.

Der steile Anstieg der Aktivität in den ersten 2 Minuten ist nicht nur durch die Extraktion der para-J-Phenylpentadecansäure aus dem Blut bedingt, sondern reflektiert auch die Extraktion der para-J-Benzoesäure, die nach Katabolisierung der para-J-Phenylpentadecansäure in den Fettsäure-verbrauchenden Organen (insbesondere dem Herzen) entstanden ist und aus diesen in das Blut eliminiert wird. In übereinstimmung mit dieser Feststellung steht die Beobachtung, daß zum Zeitpunkt des maximalen Aktivitäts-Anstiegs in der Leber die schnelle Phase der Aktivitätsabnahme im Herzen stattfindet, die durch die Elimination der Kataboliten der para-J-Phenylpentadecansäure aus der Herzzelle in das Blut bedingt ist. Gleichzeitig steigt die Blutaktivität (Abb. 7) leicht an, was auch auf einen Rückfluß von Kataboliten der para-J-Phenylpentadecansäure in das Blut schließen läßt. Die schnelle Phase der biphasischen Aktivitäts-Abnahme in der Leber spiegelt höchstwahrscheinlich den Rückfluß der konjugierten Benzoesäure in das Blut wider. Die langsame Eliminationsphase zwischen 14 und 35 Minuten

charakterisiert wahrscheinlich die Abgabe der organisch gebundenen para-J-Phenylpentadecansäure in Form von Lipidestern an das Blut. Diese langsame Komponente wurde auch bei Untersuchungen mit der ^{11}C -Palmitinsäure und der ^{123}I -Heptadecansäure gefunden (39). Entsprechend der Abb. 10 werden 70% der initialen Leberaktivität in diesem langsamen Prozess umgesetzt.

3.1.4. Aktivitätsverlauf in der Niere

In der Niere beträgt die Extraktionsrate von freien Fettsäuren aus dem Blut etwa 10% (6). Der Aktivitätsverlauf (Abb. 10) nach i.v.-Injektion der para-J-Phenylpentadecansäure zeigt einen raschen Anstieg der Aktivität in den ersten 3 Minuten p.i. auf ca. 11% der injizierten Dosis/g Niere. Danach erfolgt ein langsamer Abfall der Aktivität, der 30 Minuten p.i. etwa 2,5% der injizierten Aktivität/g Niere erreicht. Da die Niere nur eine geringe Menge freier Fettsäure im Vergleich zur Leber 25-40% (6) und zum Herzen 40,0% (6)) aus dem Blut extrahiert, kann der relativ hohe Anstieg der Aktivität nicht nur durch eine Extraktion der para-Phenyl-Pentadecansäure aus dem Blut erklärt werden. Sie wird auch durch das Anfluten der Kataboliten der para-J-Phenylpentadecansäure aus anderen Fettsäuren-verbrauchenden Organen, wie z.B. Herz und Leber beeinflusst. Die Nieren sind im Falle der para-J-Phenylpentadecansäure auch an der Konjugation der durch die β -Oxidation entstandenen para-J-Benzoesäure beteiligt (45).

Die Abbauprodukte der para-J-Phenylpentadecansäure, para-J-Benzoesäure und para-J-Hippursäure, die ins Blut zurückfließen, unterliegen zu 95% (56) einem renalen Ausscheidungsprozeß. Hippurat wird zu 80% über die Nierenzelle in die Tubuli ausge-

schieden (56) und 20% durch die Glomeruli der Niere in die Harnkanälchen filtriert.

3.1.5. Aktivitätsverlauf in der Lunge

Im Vergleich zur Blutaktivität ist die Aktivitätskonzentration im Lungengewebe höher (siehe Abb. 11). 2 Minuten p.i. liegt der prozentuale Anteil an der injizierten Aktivität/g Lunge für die para-J-Phenylpentadecansäure um das 2-fache über der Aktivität pro g Blut. Für die ^{11}C -Palmitinsäure betrug die Konzentration in der Lunge, verglichen mit dem Blut, das 6- bis 10-fache, für die ω -J-Heptadecansäure das 1-2,3-fache. Da nach Injektion von $^{123}\text{Jodid}$ (39) die Aktivität/g Lunge niedriger war als die Blutkonzentration, muß angenommen werden, daß sich auch im Lungengewebe ein Teil der injizierten para-J-Phenylpentadecansäure anreichert. Die Fettsäureaufnahme durch die Lunge ist jedoch als sehr gering einzuschätzen (6).

3.1.6. Aktivitätsverlauf im Darm

Nach Injektion von para-J-Phenylpentadecansäure findet sich im gesamten Darmsystem über dem untersuchten Zeitraum nur ein Aktivitätsanteil von 1-2% der applizierten Aktivität/g Gewebe (siehe Abb. 11). Dies spiegelt den geringen Umfang der Fettsäure-Oxidation im Darmsystem wider (6). Außerdem muß hier mit einer Anreicherung der Metaboliten der para-J-Phenylpentadecansäure gerechnet werden, da das Darmsystem eine hohe Kapillarisation aufweist.

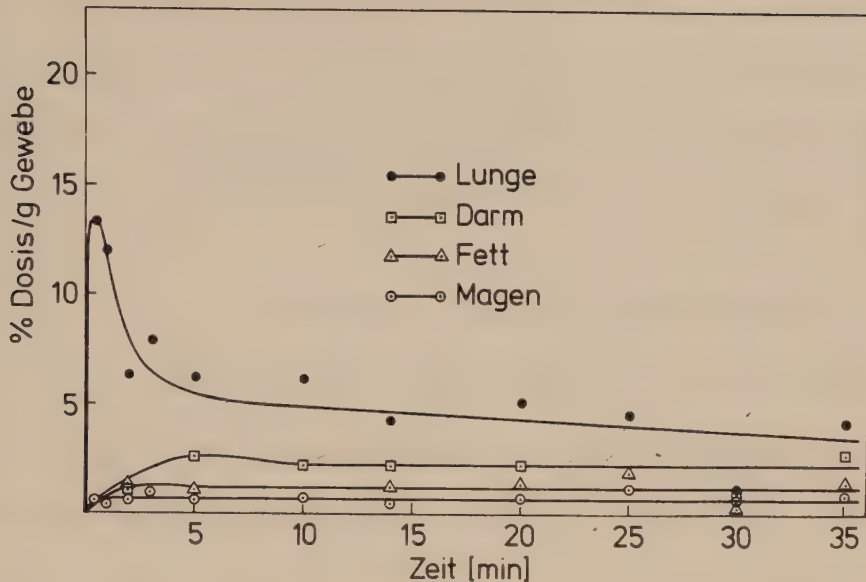


Abb. 11: Aktivitätsverlauf in der Lunge, im Darm, im Fettgewebe und im Magen nach i.v.-Injektion von 0,1 bis 0,2 μCi ω -(p-J-131-Phenyl)-Pentadecansäure in 0,1 bis 0,25 ml 5%iger HSA-Lösung (Fehler s. Tab. 9, Anhang).

Nach i.v.-Injektion von anderen radioaktiv markierten Fettsäuren (32) wie z.B. 16-J-Palmitinsäure ^{11}C -Palmitinsäure und von $^{123}\text{Jodid}$ beträgt der Anteil der akkumulierten Aktivität nur 1,1% der injizierten Dosis/g Gewebe im Falle der 16-J-Palmitinsäure, 2,1% der injizierten Dosis/g Darmgewebe bei der ^{11}C -Palmitinsäure und 2,0% der injizierten Dosis/g Darmgewebe nach i.v.-Injektion von $\text{Na-}^{123}\text{Jodid}$ 0,5 Min. p.i.

3.1.7. Aktivitätsverlauf im Fettgewebe

35 Minuten nach Injektion findet sich im Fettgewebe nur ca. 1-1,5% der injizierten Dosis/g Gewebe (siehe Abb. 11). Dies ist verständlich, da das Fettgewebe hauptsächlich Fettsäuren extrahiert, die als Triglyceride im Blut vorliegen und die eine Halbwertszeit im Plasma von 90-370 Minuten haben (3). Die wichtigste Aufgabe des Fettgewebes ist die Fettspeicherung und

die Abgabe von Fettsäuren an das Blut (3), die dann besonders in Herz und Leber verstoffwechselt werden. Durch die bekanntlich schlechte Blutversorgung und Kapillarisierung des Fettgewebes ist die Aktivitätsanreicherung von Kataboliten der para-J-Phenylpentadecansäure im Fettgewebe stark begrenzt.

3.1.8. Fettsäurestoffwechsel im Myokard

3.1.8.1. Aufnahme und Elimination der Aktivität

Der schnelle Übergang der Fettsäuren aus dem Blut in das Herz führte dazu, daß schon 1 Minute nach Injektion der para-J-Phenylpentadecansäure im Herzen das Maximum der Aktivitätsaufnahme vorlag (Abb. 12). Die Aktivitätsakkumulations-Halbwertszeit war $t_{1/2} = 0,77$ Minuten. Die maximale Anreicherung betrug 4,1% der injizierten Dosis/Herz, was bei einem Herzgewicht von 0,13 g, 32,5% der injizierten Dosis/g Herz ergibt. Die Aktivitäts-Elimination war biexponentiell. Während 10 Minuten p.i. konnten noch 15,9% der injizierten Aktivität/Herz registriert werden. 35 Minuten p.i. wurden nur noch 8% der injizierten Aktivität/g Herz im Herzen gemessen. Die graphisch ermittelten Halbwertszeiten der schnellen und langsamen Eliminationsphase waren 3,5 Minuten zw. 35 Minuten. In der schnellen Eliminationsphase wurden 70% der myokardialen Aktivität eliminiert, in der langsamen Phase 30%.

Vergleicht man den Aktivitätsverlauf der para-J-Phenylpentadecansäure im Herzen mit den von MACHULLA et al. (25) untersuchten Fettsäuren, ^{11}C -Palmitinsäure und ^{123}I -Heptadecansäure, so kann festgestellt werden (Abb. 13), daß die Akkumulation der para-J-Phenylpentadecansäure im Herzen ähnlich rasch und noch innerhalb der ersten Minute p.i. erfolgt. Dies bedeutet, daß

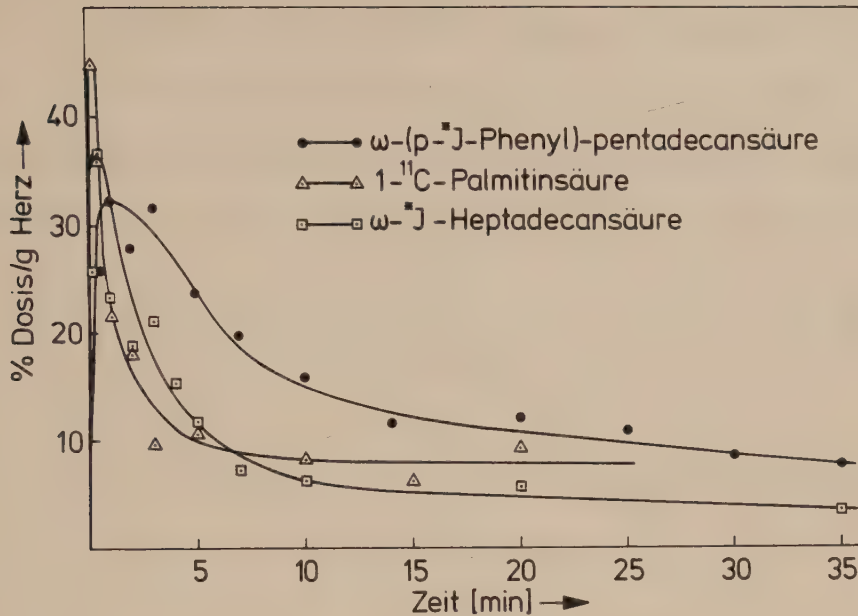


Abb. 12: Aktivitätsverlauf im Herzen von NMRI-Mäusen nach intravenöser Injektion von 0,1-0,2 ω -(p-J- ^{131}I -Phenyl)Pentadecansäure, 1-C- ^{11}C -Palmitinsäure (25) und ω -J- ^{131}I -Heptadecansäure in 0,1 bis 0,25% HSA-Lösung (Fehler s. Tab. 9, Anhang und Literatur (25)).

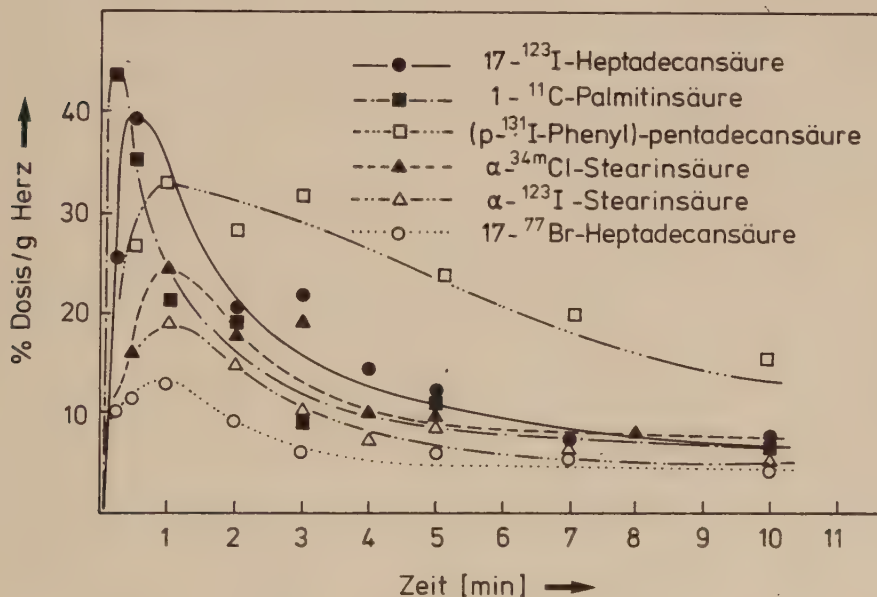


Abb. 13: Aktivitätsverlauf im Herzen von NMRI-Mäusen nach i.v.-Injektion von 0,1-0,2 ω -(p-J- ^{131}I -Phenyl)pentadecansäure, 1-C- ^{11}C -Palmitinsäure (25), ω -Radiohalogen-Fettsäure (25), d Cl- ^{34}m -Stearinsäure und d-J- ^{123}I -Stearinsäure (25) in 0,1 bis 0,25 ml 3%iger HSA-Lösung (Fehler s. Tab. 9, Anhang und Literatur (25)).

der in para-Stellung jodierte Phenylrest der para-J-Phenylpentadecansäure (im Gegensatz zu den in α -Stellung jodierten aliphatischen Fettsäuren wie z.B. der 2-J-Stearinsäure (25)) keine sterische oder induktive Behinderung der Aufnahme der para-J-Phenylpentadecansäure über die Herzmuskelmembran darstellt.

Demgegenüber ist die Elimination (auch die schnelle Eliminationsphase) der para-J-Phenylpentadecansäure langsamer als die Elimination der ^{11}C -Palmitinsäure und der J-123-Heptadecansäure (deren Halbwertszeiten betragen in der schnellen Eliminationsphase 0,5 bzw. 2,1 Minuten) (39). Das relativ langsame Absinken der Aktivität der para-J-Phenylpentadecansäure im Vergleich zur ^{11}C -Palmitinsäure in der schnellen Eliminationsphase kann mehrere Gründe haben. Einerseits könnte die durch die β -Oxidation der para-J-Phenylpentadecansäure in den Mitochondrien entstandene para-J-Benzoesäure langsamer aus der Herzmuskelzelle hinausdiffundieren und dadurch im Herzen akkumulieren. Diese Möglichkeit, die auch bei der Oxidation der J-Heptadecansäure in Form des durch den Stoffwechsel entstandenen Jodids diskutiert wird (25), besteht nicht bei der ^{11}C -Palmitinsäure, bei deren Abbau via β -Oxidation und Citrat-Zyklus CO_2 entsteht (4) und das schnell aufgrund des hohen Verteilungskoeffizienten in das Blut diffundiert. Bei der ^{11}C -Palmitinsäure muß weiterhin die Möglichkeit der Reutilisation des katabolisch freigesetzten ^{11}C -substituierten Acetyl-CoA diskutiert werden. Bei der para-J-Phenylpentadecansäure muß neben der Veränderung der Elimination durch die Kataboliten auch die Möglichkeit der sterischen Behinderung der im Fettsäurestoffwechsel involvierten Enzyme durch den jodierten Phenylrest berücksichtigt werden (siehe Kapitel Herzanalysen).

Die Halbwertszeiten der langsamen Aktivitätsabnahme von ca. 35 Minuten bei der para-J-Phenylpentadecansäure, 33 Minuten bei der ^{11}C -Palmitinsäure (39) und 25 Minuten bei der J-Heptadecansäure (39) sind innerhalb des experimentellen Fehlers nahezu gleich. Dies läßt darauf schließen, daß sowohl die chemisch unveränderte ^{11}C -Palmitinsäure als auch die radiohalogen markierten Fettsäuren bei ihrer langsamen Elimination aus dem Herzmuskel ähnlichen Abbauprozessen unterliegen. Der wesentliche Unterschied der para-J-Phenylpentadecansäure zu den anderen besteht darin, daß der Anteil der Aktivität in der langsamen Eliminationsphase höher als bei der ^{11}C -Palmitinsäure und der ^{123}J -Heptadecansäure ist. Dieser hohe Aktivitätsanteil ist möglicherweise dadurch bedingt, daß mehr Fettsäure-gebundene Aktivität in Lipide eingebaut wird. Diese Schlußfolgerung steht in Einklang mit der Feststellung, daß auch die Freisetzung des CO_2 nach intrakoronarer Injektion von ^{14}C -Palmitinsäure (4) biexponentiell verläuft. Der zunächst schnelle, dann langsame Abfall der ^{14}C - O_2 -Ausscheidung wurde darauf zurückgeführt, daß nur ein Teil der aufgenommenen ^{14}C -Palmitinsäure sofort zur Energiegewinnung oxidiert wird. Der Rest wird zunächst in Triglyceride und Phospholipide eingebaut (5) und erst danach im Austausch gegen neu eintretende Fettsäuren zum Abbau freigesetzt. Der Prozeß der Glyceridspaltung scheint bei der para-J-Phenylpentadecansäure langsamer zu sein. Dies spiegelt sich in der langsamen Eliminationsphase der para-J-Phenylpentadecansäure in der Herzzeitaktivitäts-Kurve wider (siehe Abschnitt Herzanalysen).

Auch die para-Br-75-Phenylpentadecansäure zeigte eine ähnliche Aktivitäts-Akkumulation im Mäuseherzen, festgestellt von

STÖCKLIN (35) und MACHULLA et al. (36), wie dies bei der para-J-Phenylpentadecansäure, der J-Heptadecansäure und der ^{11}C -Palmitinsäure der Fall war. Dies führte zu dem Schluß, daß der Wechsel eines Halogenatoms am Phenylring die Aufnahme im Herzen und in der Leber nicht wesentlich beeinflußt (36). Die Elimination der Fettsäure-gebundenen Aktivität war auch ähnlich wie bei der para-J-Phenylpentadecansäure verlangsamt. Dies wurde auf eine langsamere Oxidation der Phenylfettsäure und/oder einer Reutilisation von kurzkettigen bromierten Phenylderivaten zurückgeführt (35). Auch im Falle der para-Brom-Phenylpentadecansäure erschien kein freies Halogenid im Herzen. Als Endabbauprodukt der para-Brom-Phenylpentadecansäure wurden kleine organische Moleküle wie die para-Brom-Benzoesäure im Herzen gefunden (35). para-Brom-Benzoesäure wurde schließlich auch als Konjugat para-Hippursäure, im Urin von Mäusen analysiert, was auf eine Konjugation mit Glycin in der Leber und in der Niere, wie dies auch bei der para-J-Benzoesäure der Fall ist, schließen läßt (35).

3.1.8.2. Der zeitliche Aktivitätsverlauf der Herz/Blut- und der Herz/Leber-Quotienten der para-J-Phenylpentadecansäure in der Maus

Ein hohes Herz/Blut- und Herz/Leber-Verhältnis ist für die Abgrenzung und Darstellung des Herzens in vivo mit Hilfe der Szintigraphie von den umgebenden Strukturen wie Lunge, Leber und Magen von grundsätzlicher Bedeutung.

Wie die Tabelle 4 zeigt, ist bei der Verwendung der p-J-Phenylpentadecansäure zwischen 1-5 Minuten p.i. der maximale Wert von 10-20 für das Herz-Blut-Verhältnis erreicht. Die J-Heptadecan-

säure hat hingegen ein Herz-Blut-Verhältnis von nur 5-6 zwischen 0,5 - 4 Minuten p.i. (25). Das Herz-Blut-Verhältnis ist damit bei der ^{123}J -Heptadecansäure im Zeit-Intervall von 1-5 Minuten ca. 3 mal so niedrig wie bei der para-J-Phenylpentadecansäure. Dies wird vermutlich durch die längeren Eliminations-Halbwertszeiten der Kataboliten der J-Heptadecansäure im Blut

Herz/Blut-und Herz/Leber-Verhältnisse der angereicherten Aktivität in NMRI Mäuse nach i.v. Injektion von 1-1.5 Ci p-J- ^{131}I -Phenylpentadecansäure zu verschiedenen Zeitpunkten		
Zeit (min)	Herz/Blut Verhältnis	Herz/Leber Verhältnis
0.5	4.2	2.9
1	9.3	2.7
2	19.9	2.0
3	18.6	2.2
5	9.9	1.6
7	7.9	1.4
10	8.4	1.7
14	6.1	2.0
20	4.3	1.5
25	5.0	1.5
30	4.2	1.2
35	2.6	1.1

Tab. 4:

verursacht. Jodid als endgültiges Abbauprodukt der J-Heptadecansäure hat eine lange Blut-Eliminations-Halbwertszeit von ca. 5,5 Stunden im Vergleich zur kurzen Halbwertszeit der para-J-Benzoesäure (20 Minuten) und der para-J-Hippursäure (ca. 20 Minuten). Die ^{11}C -Palmitinsäure hatte ein ähnlich hohes Herz-Blut-Verhältnis wie die para-J-Phenylpentadecansäure. In diesem Fall wurden Verhältnisse von 10-20 0,5 - 20 Minuten p.i. beobachtet (25). Wenn berücksichtigt wird, daß das Endabbauprodukt der ^{11}C -Palmitinsäure, das $^{11}\text{CO}_2$, schnell aus dem Herzen in das Blut diffundiert, wo es über die Lunge sehr schnell abgeatmet wird, macht dies den sehr niedrigen Blutspiegel ver-

ständig. Außerdem wird das $^{11}\text{CO}_2$ zu einem geringen Teil als Hydrogencarbonat durch die Nieren ausgeschieden. Das Herz-Leber-Verhältnis war im Verlauf der Untersuchung mit der para-J-Phenylpentadecansäure mit 1,5 - 3 relativ konstant. Dies läßt darauf schließen, daß die p-J-131-Phenylpentadecansäure sowohl im Herzen als auch in der Leber vorwiegend in Lipide eingebaut werden, die in den entsprechenden Pools vermutlich einen relativ langsamen Umsatz haben (siehe Kapitel Herzanalysen).

3.1.8.3 Herzanalysen

3.1.8.3.1. Aufnahme und Stoffwechsel der verschiedenen Fettsäuren

Das Erscheinen und die Verstoffwechselung von freien Fettsäuren im Herzen ist abhängig von verschiedenen Faktoren. Die Extraktionsrate von Fettsäuren durch das Myokard beträgt 15 - 40 % unter normalen, aeroben Bedingungen in vivo (7). Die Aufnahmeraten hängen vor allem von der Kettenlänge der Fettsäuren (8), dem molaren Verhältnis der Fettsäuren zum Albumin im Blut (9), dem Sauerstoffbedarf (10), der zellulären metabolischen Integrität, dem regionalen Perfusionsverhältnis (11) und der Konzentration der Fettsäuren im Blut (12) ab. Nach der Aufnahme werden die Fettsäuren im Cytosol mit CoA SH verestert und dem intermediären Stoffwechsel zugeführt. Ein Teil wird in Phospholipide und Triglyceride eingebaut (Abb. 14) (13), ein anderer Teil wird über das Carnitin-System in die Mitochondrien transportiert und der β -Oxidation zugeführt (8).

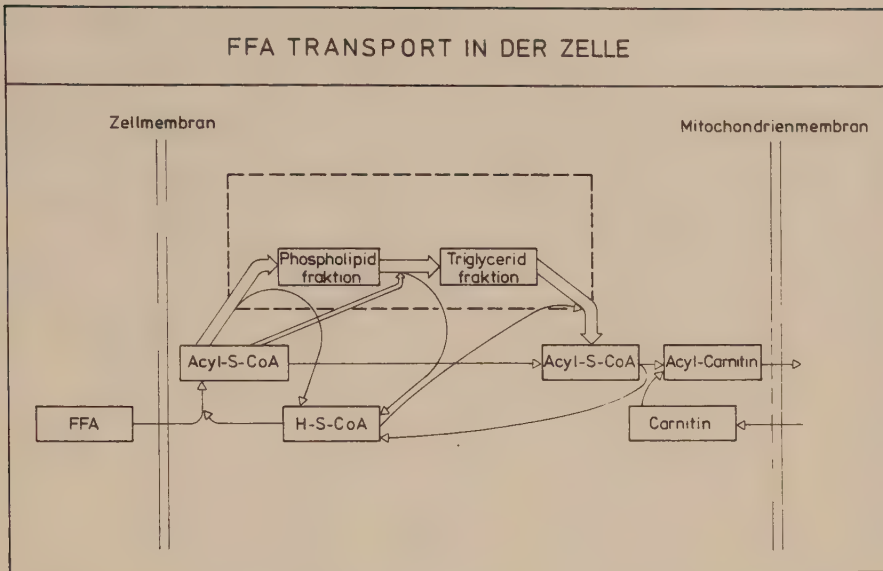


Abb. 14: Vereinfachtes Schema des Fettsäuremetabolismus in der Herz-Zelle.

Abkürzungen: FFA = freie Fettsäuren; Acyl-CoA = langkettige Coenzym-A-Fettsäuren. H-S-CoA = freies Coenzym A. Erklärung siehe Text.

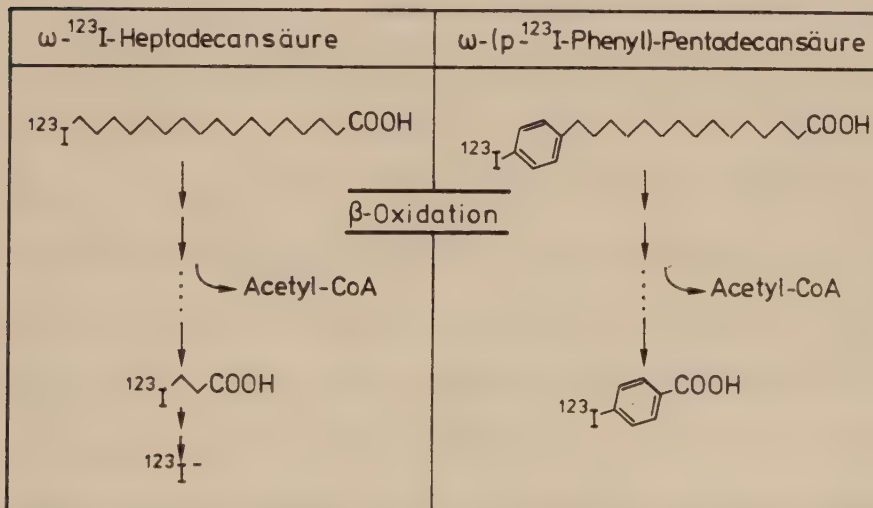


Abb. 15: Schema des Abbaus der ω -I-123-Heptadecansäure und der ω -(p-I-123-Phenyl)-pentadecansäure durch die β -Oxidation.

Das Prinzip der β -Oxidation (= paariger Fettsäureabbau) wurde bereits von KNOOP 1905 mit Hilfe von nicht-jodierten Phenylfettsäuren entdeckt, die nur am aliphatischen Teil durch den tierischen Organismus verändert werden. Es wurde gefunden, daß ungeradzahlige Fettsäuren bis zur Stufe der Propionsäure, geradzahlige Fettsäuren bis zur Stufe der Essigsäure abgebaut werden. Phenylpropionsäure wird über Phenylzimtsäure, Phenyl- β -Hydroxy-Propionsäure und Phenyl- β -Ketopropionsäure zur Benzoesäure abgebaut, die nach Paarung mit Glycin in der Leber und in der Niere als Hippursäure im Harn ausgeschieden wird. Der Abbau der Phenylfettsäuren verläuft demzufolge von der gesättigten über die α -, β -ungesättigte Fettsäure zur β -Hydroxyfettsäure und weiter zur β -Ketofettsäure. Aus der β -Ketofettsäure wird ein C2-Bruchstück abgespalten. Die Reaktionsfolge stellt demnach einen paarigen Abbau (Verkürzung der Fettsäure um jeweils zwei C-Atome) oder eine β -Oxidation dar. Dieser Abbau ist auch für die ungeradzahlige para-jodierte Phenylpentadecansäure anzunehmen (siehe Abb. 15), die bei Voruntersuchungen eine hohe Aufnahme in das Mäuseherz zeigte.

Die ω - ^{123}J -Heptadecansäure wurde bisher nur hinsichtlich ihrer Tracer-Akkumulation und Elimination im Herzen untersucht (25). Man geht bei der J-Heptadecansäure davon aus (25), daß als Endprodukt des Katabolismus Jodpropionsäure entsteht, die im Herzen dejodiert wird (s. Abb. 15). Das Jodid gelangt dann über das Interstitium in das Blut, wo es sich in die Jod-aufnehmenden Organe wie z.B. die Schilddrüse verteilt.

3.1.8.3.2. Aktivitäts-Verteilung in der organischen und der wässrigen Phase

Die Analyse der myokardialen Jod-131-Phenylpentadecansäure und der J-123-Heptadecansäure-Aktivitäts-Verteilung in der organischen, in der wässrigen Phase und im Geweberest (Abb. 16 und 17) zeigten, daß in der organischen Phase nach para-J-Phenylpentadecansäure-Injektion eine maximale Aufnahme von 15,6% der injizierten Dosis pro g Herz nach 2 Minuten p.i. erreicht wird. Die Aktivitäts-Akkumulation war schnell ($t_{1/2} = 0,3$ Minuten). Die Eliminationsrate der organischen Phase war biexponentiell; 80 % der Aktivität wurde mit einer Halbwertszeit von 10 Minuten und 20 % mit einer Halbwertszeit von 100 Minuten eliminiert. In der wässrigen Phase der para-J-Phenylpentadecansäure konnte eine maximale Aufnahme von 10,5 % der injizierten Dosis/g Herz 2 Minuten p.i. beobachtet werden (Abb. 17). Die Elimination der Aktivität war mit einer Halbwertszeit von 5 Minuten monoexponentiell. Die Aktivitätsanteile im Geweberest erreichten ihr Maximum von 11,6 % der injizierten Dosis/g Herz 2 Minuten p.i. 90 % der Aktivität wurde in der folgenden Eliminationsphase schnell ($t_{1/2} = 2$ Minuten) eliminiert. Bei den restlichen 10 % konnte keine signifikante Änderung der Aktivitäts-Elimination zwischen 10 und 30 Minuten p.i. festgestellt werden (s. Tabelle 5).

Während nach Applikation der para-J-Phenylpentadecansäure die höchste Anreicherung in der organischen Phase gefunden wurde, konnte bei der J-Heptadecansäure der größte Teil der Aktivität in der wässrigen Phase (21,7 % der injizierten Aktivität/g Gewebe 0,5 Minuten p.i. als Maximum) analysiert werden (s. Abb. 16).

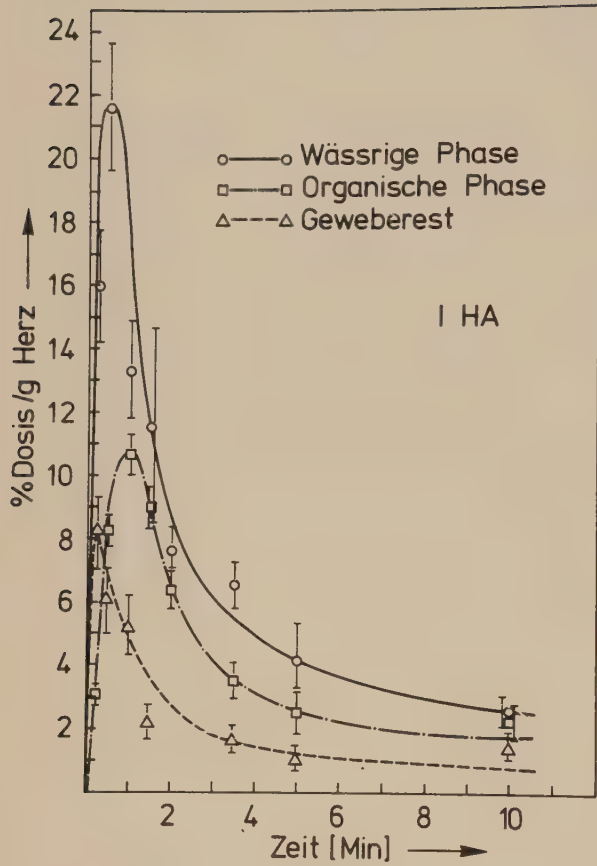


Abb. 16: Aktivitätsverlauf in der wässrigen, organischen Phase und im Geweberest nach Fraktionierung von Herzmuskelgewebe von NMRJ-Mäusen nach i.v.-Injektion von 0,1-0,2 μ Ci ω -J-131-Heptadecansäure in 0,1 bis 0,25 ml 5%iger HSA-Lösung

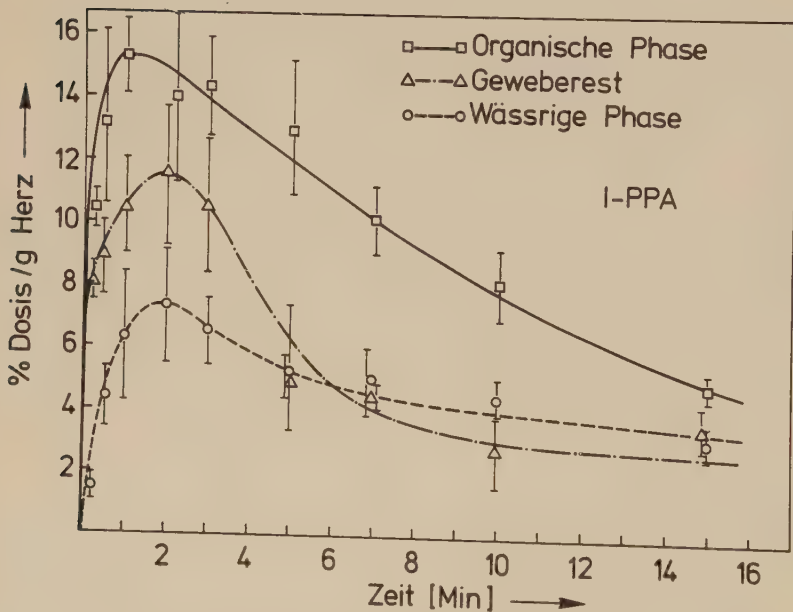


Abb. 17: Aktivitätsverlauf in der wässrigen, organischen Phase und im Geweberest nach Fraktionierung von Herzmuskelgewebe von NMRJ-Mäusen nach i.v.-Injektion von 0,1-0,2 μ Ci ω -J-131-Phenylpentadecansäure in 0,1-0,25 ml 5%iger HSA-Lösung

Parameter des Aktivitätsumsatzes in verschiedenen Fraktionen, extrahiert aus dem Herzen nach i.v. Applikation von 1,0 μCi ω -(p-I-131-Phenyl)-pentadecansäure. Die Kurvenparameter wurden von den Mittelwerten erhalten.

(N=6)	Aktivität-Akkumulation Halbwertszeit (HWZ) (min.)	Aktivität-Elimination			
		1. Komponente		2. Komponente	
		HWZ (min.)	Intercept (%)	HWZ (min.)	Intercept (%)
Herz	0.77	2.3	70	34	30
Organische Phase	0.37	10	80	100	20
Wässrige Phase	0.75	15	100	-	-
Geweberest	0.5	2	90	∞	10
Freie Fettsäuren	0.14	1.4	80	83	20
Phospholipide	-	2.2	80	25	20
Benzoesäure	0.86	2.2	76	110	24

Tabelle 5:

Diese Beobachtung erklärt sich dadurch, daß Jodid, Endabbau-
produkt des Katabolismus der J-Heptadecansäure im Herzen, was-
serlöslich ist (siehe Tabelle 3 im Kapitel Methoden) und damit
in der wasserlöslichen Fraktion gefunden wird. Das Endabbau-
produkt der para-J-Phenylpentadecansäure, para-J-Benzoesäure,
verteilt sich, weil es lipophil ist, in der organischen Phase
(siehe Tabelle 3, Kapitel Methoden).

Die Elimination der Aktivität in der organischen Phase war im
Falle der para-J-Phenylpentadecansäure wesentlich langsamer
als dies bei der organischen Phase der J-Heptadecansäure war.
Wie man in Tabelle 3 im Kapitel Methoden sieht, findet sich die
Triglycerid- und die Phospholipid-Aktivität zu über 80 % in
der organischen Phase wieder. Im Falle des langkettigen Acyl-
CoA-Konjugats verteilt sich die Aktivität vorwiegend im Ge-
weberest zu über 90 %, während das Acetyl-CoA-Konjugat sich
zu 2/3 im Geweberest und zu 1/3 in der organischen Phase wie-

derfindet. Dies deutet darauf hin, daß entweder der jodierte Phenylrest eine sterische oder induktive Behinderung bei der Hydrolyse der para-J-Phenylpentadecansäure aus den Lipidspeichern darstellt und/oder der Transport der para-J-Phenylpentadecansäure und deren Abbau in den Mitochondrien behindert sein kann.

Die Unterschiede in dem Verhalten der Aktivitäts-Verteilung im Geweberest der beiden Substanzen sprechen dafür, daß bei der para-J-Phenylpentadecansäure wesentlich mehr Aktivität im Geweberest retiniert und langsamer aus diesen eliminiert wird, als dies bei der J-Heptadecansäure der Fall ist (siehe Abb. 16 und 17). In Anbetracht des Befundes, daß über 90 % von langkettigen Coenzym-A-Fettsäuren und über 60 % von kurzkettigen Coenzym-A-Fettsäuren sich nach der Herzfraktionierung im Geweberest verteilen (siehe Tabelle 3), ist ein verlangsamter Fluß von Acyl-CoA-Derivaten zur β -Oxidation im Falle der para-J-Phenylpentadecansäure anzunehmen. Man kann jedoch in diesen Experimenten eine cytosolische von einer mitochondrialen Acyl-CoA-Retention nicht unterscheiden. Deshalb ist eine Behinderung des Acyl-CoA-Carnitin-Transport-Systems und/oder eine Behinderung über die β -Oxidation möglich.

3.1.8.3.3. Auftrennung der organischen Phase

Die organische Phase wurde mit Hilfe der Dünnschicht-Chromatographie in die freien Fettsäuren-, Phospholipid-, Triglycerid-Fractionen und im Falle der para-J-Phenylpentadecansäure zusätzlich in die lipophile Benzoesäure-Fraktion aufgeteilt.

Die Analyse (Abb. 18 und 19) zeigte, daß bei der para-J-Phe-

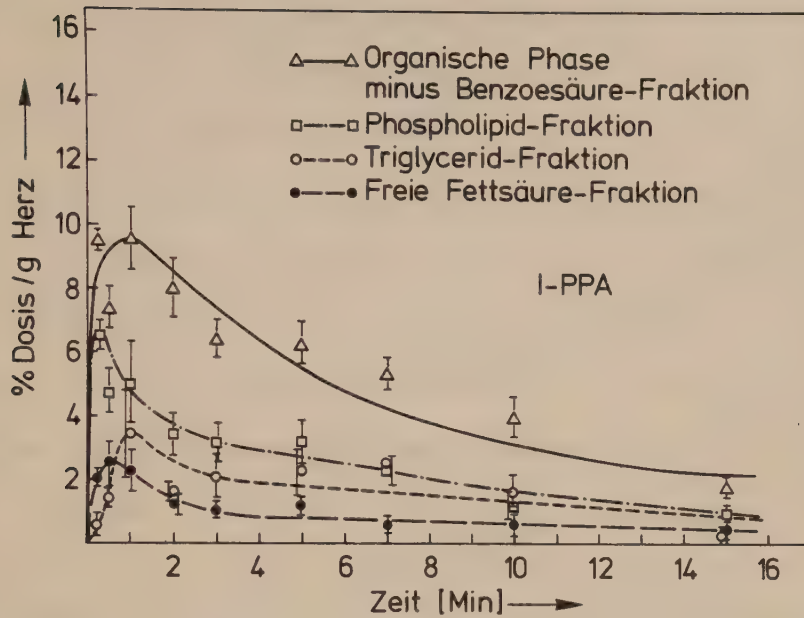


Abb. 18: Aktivitätsverlauf in der organischen Phase minus der Benzoessäure-Fraktion, der Phospholipid-, Triglycerid- und freien Fettsäure-Fraktion im Herzmuskelgewebe von NMRJ-Mäusen nach i.v.-Injektion von 0,1-0,2 μCi p -J-131-Phenylpentadecansäure in 0,1 bis 0,25 ml HSA-Lösung.

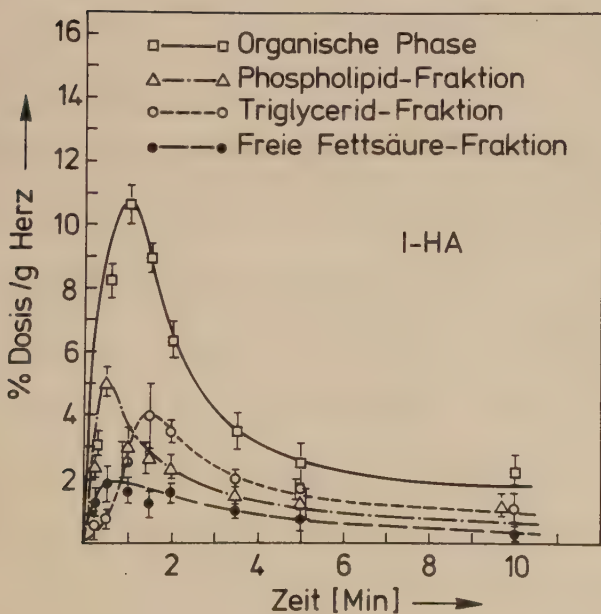


Abb. 19: Aktivitätsverlauf in der organischen Phase, der Phospholipid-, Triglycerid- und der freien Fettsäure-Fraktion im Herzmuskelgewebe von NMRJ-Mäusen nach i.v.-Injektion von 0,1-0,2 μCi ω -J-131-Heptadecansäure in 0,1-0,25 ml HSA-Lösung.

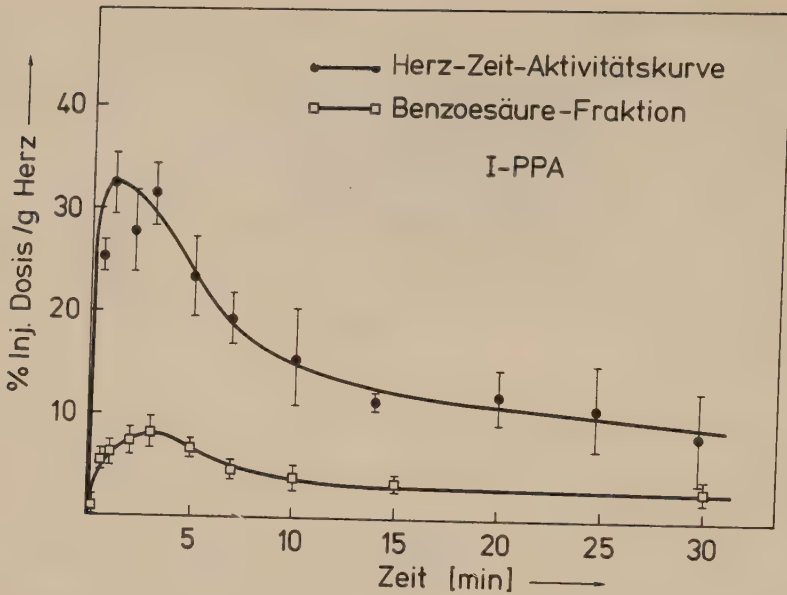


Abb. 20: Aktivitätsverlauf im Herzmuskel und in der Benzoessäure-Fraktion von NMRI-Mäusen nach i.v.-Injektion von 0,1-0,2 µCi p-J-131-Phenylpentadecansäure in 0,1-0,25 ml HSA-Lösung.

nylpentadecansäure die freien Fettsäuren einen sehr schnellen Anstieg ($t_{1/2} = 0,14$ Minuten) mit einer maximalen Aufnahme von ungefähr 2,3 % der injizierten Dosis/g Herz 0,5 - 1,0 Minuten p.i. hatte. Die Eliminationsrate war biexponentiell. 80 % der Fettsäurefraktionen wurde eliminiert mit einer Halbwertszeit von 1,4 Minuten, 20 % mit einer Halbwertszeit von 83 Minuten (siehe Tabelle 5). Die Phospholipidfraktion zeigte einen maximalen Anstieg von 6,5 % der injizierten Dosis/g Herz 0,25 Minuten p.i.; 80 % der Aktivität wurde eliminiert mit einer Halbwertszeit von 2,2 Minuten, 20 % mit einer Halbwertszeit von 25 Minuten. Die Triglycerid-Fraktion zeigte einen maximalen Anstieg von 2,5 % der injizierten Dosis/g Herz 1-2 Minuten p.i. mit einer folgenden Eliminationsphase parallel zu der Fettsäurefraktion. Das Erscheinen der Benzoessäure als Endabbauprodukt der para-J-Phenylpentadecansäure durch die β -Oxidation konnte auch in der organischen Phase analysiert werden, da sich die Benzoessäure als lipophile Substanz haupt-

sächlich in der organischen Phase verteilte (siehe Tabelle 3). Die Benzoessäure-Fraktion zeigte eine Aktivitäts-Akkumulation mit einer Halbwertszeit von $t_{1/2}$ von 0,86 Minuten, einen relativ späten maximalen Aktivitäts-Anstieg von ca. 8 % der injizierten Dosis/g Herz 2-3 Minuten p.i. und eine biexponentielle Eliminationsphase. Über 75 % der Aktivität der Benzoessäurefraktion wurde mit einer Halbwertszeit von über 2,2 Minuten eliminiert, 25 % mit einer Halbwertszeit von 25 Minuten (siehe Abb. 20 und Tabelle 5). Da nach Injektion von ^{14}C -Benzoessäure nur 2,5 % der injizierten Dosis/g Herz nach 1 Minute im Herzen gefunden wurde (siehe Tabelle 17, Anhang), muß davon ausgegangen werden, daß die bei dieser Untersuchung gefundenen Benzoesäure-Anteile aus dem Katabolismus der para-J-Phenylpentadecansäure stammen muß.

Die Analysen der J-Heptadecansäure zeigten (siehe Abb. 19), daß in der Fettsäurefraktion ein maximaler Anstieg mit 1,9 % der injizierten Dosis/g Herz 1 Minute p.i. erreicht wurde. Die Aktivität in der Fettsäure-Fraktion wurde mit einer Halbwertszeit eliminiert, die mit der Fettsäure-Fraktion der para-J-Phenylpentadecansäure vergleichbar war. Die Phospholipidfraktion zeigte ein Aktivitätsmaximum bis 5,1 % der injizierten Dosis/g Herz 0,5 Minuten p.i. mit einer biexponentiellen Eliminationsphase. Die Triglyceridfraktion stieg auf ein Maximum von 4,0 % der injizierten Dosis/g Herz 6,5 Minuten p.i.. Sie zeigte auch einen biexponentiellen Abfall der Aktivität nach diesem Maximum (siehe Abb. 19).

Diese Resultate deuten darauf hin, daß ein Teil der aufgenommenen Fettsäuren zuerst in Phospholipide und Triglyceride ein-

gebaut werden, bevor deren Hydrolyse und danach die anschließende Oxidation in den Mitochondrien stattfindet. Dieser Befund unterstützt daher die Hypothese von STEIN et al. (5), daß im Herzen ein Triglyceridspeicher mit einem hohen und schnellen Umsatz existiert, der als ein leicht zu mobilisierender Speicher für die Fettsäuren dient, die für die myokardiale Energieproduktion gebraucht werden.

Bei beiden Fettsäuren findet man nur (siehe Abb. 18 und 19) eine kleine Menge von freien Fettsäuren, die einen geringen Umsatz zeigen. Dies weist möglicherweise auf einen frühen und sehr schnellen Einbau von mit CoA-SH geesterten Fettsäuren in verschiedene Herzlipide und/oder deren Oxidation in den Mitochondrien hin.

Im Falle der Triglycerid-Fraktion und der Phospholipid-Fraktion der para-J-Phenylpentadecansäure ist die Eliminations-Kinetik verglichen mit der der J-Heptadecansäure erheblich verlangsamt. Daraus kann man schließen, daß durch den jodierten Phenylrest eine sterische oder induktive Behinderung der Enzyme stattfindet, die an der Hydrolyse - also Mobilisierung von freier para-J-Phenylpentadecansäure aus den Phospholipid- und den Triglyceridspeichern - beteiligt sind.

Die Tatsache, daß die para-J-Benzoesäure sofort nach para-J-Phenylpentadecansäure-Applikation erscheint (8 % der injizierten Dosis/g Herz 3 Minuten p.i.) (siehe Abb. 20) spricht dafür, daß ein Teil der Fettsäure nach deren Extraktion aus dem Blut direkt durch die β -Oxidation in den Mitochondrien abgebaut wird.

Bei den Versuchen mit der J-Heptadecansäure spricht für die An-

nahme einer direkten Oxidation der aufgenommenen Fettsäure die hohe Akkumulation der Aktivität in der wässrigen Phase, die vor allem durch das katabolisch freigesetzte Jodid oder evtl. durch die Abspaltung des Jodids von der Heptadecansäure auf der Stufe der β -Oxidation in den Mitochondrien verursacht wird. Eine cytosolische Abspaltung von Jodid ist unwahrscheinlich, da die J-Heptadecansäure ähnlich wie die p-J-Phenylpentadecansäure in die verschiedenen Herzlipide eingebaut wird. 0,5 Minuten p.i. besteht $\frac{2}{3}$ (20 % der injizierten Dosis/g Herz) der Aktivität im Herzen aus freiem Jodid (39), das dann über das Interstitium ins Blut ausgewaschen wird. Zum gleichen Zeitpunkt findet sich bei der para-J-Phenylpentadecansäure in der para-J-Benzoesäure-Fraktion nur $\frac{1}{6}$ der Aktivität im Herzen (5 % der injizierten Dosis/g Herz). Auch wenn man berücksichtigt, daß im Falle der J-Heptadecansäure Anteile der Aktivität in der wässrigen Phase durch Fremd-Jodid bedingt sein können, muß insgesamt davon ausgegangen werden, daß der Umsatz der J-Heptadecansäure im Vergleich zur para-J-Phenylpentadecansäure im Herzen relativ schnell ist. Vergleicht man nun auch die Gewebereste der beiden Fettsäuren (siehe auch Kapitel Auftrennung der einzelnen Phasen) miteinander, so findet man dort bei der J-Heptadecansäure geringere Aktivitäts-Werte, was darauf hindeutet, daß die Aktivität aus dem Geweberest bei der J-Heptadecansäure im Gegensatz zur para-J-Phenylpentadecansäure schneller eliminiert wird. Dies könnte auf eine ungestörte Enzym-Substrat-Interaktion in bezug auf die Verstoffwechselung der J-Heptadecansäure hinweisen, weil sich die Enzyme wie z.B. Acyl-Coenzym A und alle nicht wasserlöslichen und nicht-lipophilen Substanzen hauptsächlich im Geweberest verteilen (siehe Tabelle 3 im Kapi-

tel Methoden). Weiterhin ist die Höhe der Aktivität in der organischen Phase bei den radioaktiv markierten Fettsäuren zu frühen Zeitpunkten annähernd gleich, zu späteren Zeitpunkten jedoch unterschiedlich (siehe Abb. 18 und 19). Daraus ist zu folgern, daß anfangs der Anteil der Fettsäuren, die nach Injektion der J-Heptadecansäure direkt oxidiert werden, wesentlich größer ist, als dies nach Applikation der para-J-Phenylpentadecansäure der Fall ist (bei sonst gleicher Höhe des Einbaus beider radioaktiv markierten Fettsäuren in Triglyceride und Phospholipide). Dies erklärt auch die rasche Abnahme der Aktivität der Herz-Zeitaktivitäts-Kurve bei der J-Heptadecansäure in der schnellen Eliminationsphase, die auch durch Umgehung der β -Oxidation in den Mitochondrien durch vorzeitige Jodidabspaltung mit nachfolgender Diffusion von freigesetztem Jodid aus der Herzzelle in den myokardialen Blutraum bedingt sein kann.

Die Analyse des Verlaufs der prozentualen Aktivitäts-Verteilung der gesamten organischen Phase minus der Benzoesäure-Fraktion mit dem Aktivitätsverlauf in der Benzoesäure-Fraktion bei den Versuchen mit der para-J-Phenylpentadecansäure spricht dafür (siehe Abb. 21), daß zwischen diesen beiden Größen eine Vorläufer-Produkt-Beziehung (61) existiert. Da die organische Phase minus der Benzoesäure-Fraktion die Aktivität der Phospholipide und der Triglyceride und der freien Fettsäuren widerspiegelt, bedeutet diese Vorläufer-Produkt-Beziehung der organischen Phasen minus der Benzoesäure-Fraktion und dem Fettsäure-Abbauprodukt (para-J-Benzoesäure), daß die in der organischen Fraktion enthaltenen Fettsäuren wirklich verstoffwechselt werden bzw., daß der Abfall der organischen Phase

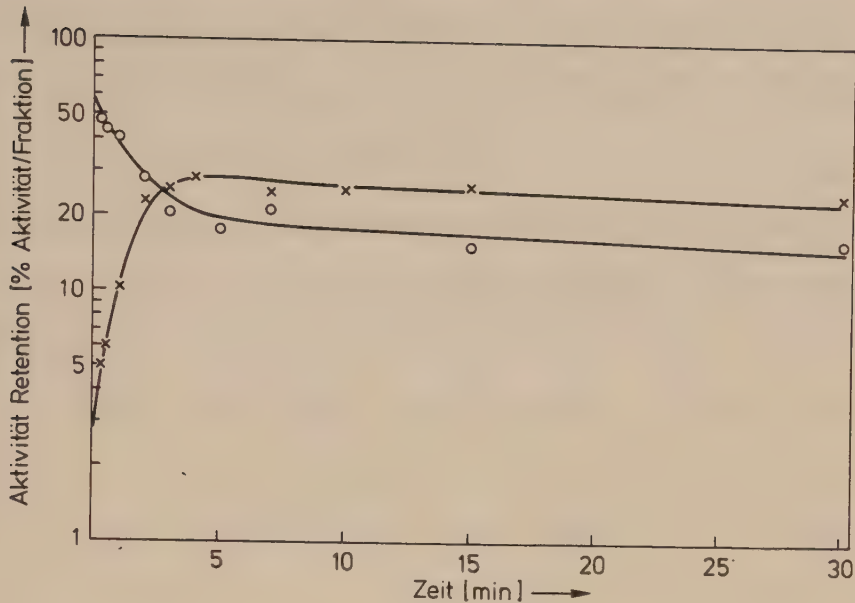


Abb. 21. Aktivitätsverlauf in der organischen Phase minus der Benzoessäurefraktion (o-o) und der Benzoessäurefraktion (x-x) im Herzmuskelgewebe von NMRI-Mäusen nach i.v.-Injektion von 0,1-0,2 μCi p-J-131-Phenylpentadecansäure in 0,1-0,25 ml HSA-Lösung (Fehler s. Tabelle 13. Anhang).

nicht als Rückdiffusion der aufgenommenen Fettsäuren ins Blut aufgefaßt werden darf. Der Schnittpunkt der beiden Kurven liegt bei ca. 3 Minuten p.i. Ab 5 Minuten p.i. laufen die Kurven parallel, was darauf hinweist, daß ab diesem Zeitpunkt sich zwischen dem Abbau der para-J-Phenylpentadecansäure aus den Lipidspeichern und der β -Oxidation der para-J-Phenylpentadecansäure ein Gleichgewicht eingestellt hat. Der Unterschied in der Höhe der beiden Kurven ab 5 Minuten p.i. weist darauf hin, daß sich bei der Benzoessäure-Fraktion ein geringer Gradient gebildet hat, was für eine geringfügige Retention der Benzoessäure in der Myokardzelle sprechen könnte. Dies bestätigen auch die Experimente mit der ^{14}C -Benzoessäure, wo sich nach i.v.-Injektion der ^{14}C -Benzoessäure zwischen dem Blut und dem Myokard ein Gradient bildet. Verglichen mit der Höhe der Benzoessäure-Fraktion

nach Applikation der para-J-Phenylpentadecansäure im Herzen (siehe Abb. 20), schließt die geringe kardiale Aufnahme der ^{14}C -Benzoessäure von ca. 2,5% der injizierten Dosis/g Herz 1 Minute p.i. eine Rückverteilung der para-J-Benzoessäure aus anderen para-J-Phenylpentadecansäure-metabolisierenden Organen über das Blut in die Myokardzelle aus.

3.2. Kaninchenversuche

3.2.1. Vergleichende Studien zwischen den in para- bzw. ortho-Stellung jodierten ^{131}J -Phenylfettsäuren und der ω - ^{131}J -Heptadecansäure in Kaninchen

Bei der Herstellung der jodierten Phenylpentadecansäure entstehen zwei Isomere, die para-J-Phenylpentadecansäure und die ortho-J-Phenylpentadecansäure (siehe Methoden). Um zu prüfen, welche von beiden die beste Anreicherung im Herzen hat, wurden Kaninchen ortho-J-Phenylpentadecansäure und para-J-Phenylpentadecansäure injiziert. Als Vergleich wurde die J-Heptadecansäure gewählt. In Tabelle 6 ist die Akkumulation der Aktivität im Herzen, im Blut, in der Leber und in der Lunge pro Gramm Gewebe 9 Minuten p.i. dargestellt. Die Organquotienten der para-J-Phenylpentadecansäure/ortho-J-Phenylpentadecansäure und der para-J-Phenylpentadecansäure/Jod-Heptadecansäure und der ortho-J-Phenylpentadecansäure/J-Heptadecansäure in Herz und Leber sowie die Aktivitäts-Quotienten der Herz-Leber- und der Herz-Blut-Verhältnisse, die in in-vitro-Experimenten ermittelt wurden, sind in Tabelle 6, 7 und 8 zusammengefaßt.

% der injizierten Aktivität pro Gramm Herz, Leber, Blut, Lunge und die Summe von Herz und Leber nach i.v. Injektion von 500 μCi para-J-Phenylpentadecansäure (p*-J-PPA) o-J-Phenylpentadecansäure (o*-J-PPA) und ω -J-Heptadecansäure (ω -J-HA) in Kaninchen. Die Kaninchen wurden 9 Min. p.i. getötet.					
Säuren	Herz	Leber	Blut	Lunge	Herz+Leber
p*-J-PPA	$0.173_8 \pm 0.078$	$0.216_8 \pm 0.122$	$0.048_8 \pm 0.023$	$0.131_8 \pm 0.108$	$0.389_8 \pm 0.200$
o*-J-PPA	$0.078_6 \pm 0.048$	$0.275_6 \pm 0.140$	$0.025_6 \pm 0.010$	$0.043_6 \pm 0.046$	$0.353_6 \pm 0.188$
ω -J-HA	$0.193_2 \pm 0.074$	$0.263_2 \pm 0.004$	$0.06_2 \pm 0.010$	$0.113_2 \pm 0.025$	$0.456_2 \pm 0.078$

*Im Falle von p-J-PPA und o-J-PPA wurde J-131 und bei der ω -J-HA J-123 als Isotop benutzt; (siehe Methode).

Tabelle 6:

Die Position des Jods am Ring des Phenylrestes der Phenylpentadecansäure beeinflusst offensichtlich die Aufnahme der Fettsäure in das Herz und in die Leber. So zeigt das ortho-Isomer

Herz/Leber und Herz/Blut Quotienten der angereicherten Aktivität nach Injektion von 500 μ Ci p-J-Phenylpentadecansäure (p*-J-PPA), o-J-Phenylpentadecansäure (o*-J-PPA) und der ω -J-Heptadecansäure (ω *-J-HA) 9 Minuten p.i. in Kaninchen.		
Säure	Herz/Leber	Herz/Blut
p*-J-PPA	0.8	3.6
o*-J-PPA	0.3	3.1
ω *-J-HA	0.7	3.2

Tabelle 7:

der Phenylpentadecansäure eine niedrigere myokardiale Aufnahme als das para-Isomer der Phenylpentadecansäure. In der Leber war die Aufnahme des ortho-Isomers der Phenylpentadecansäure höher als die des para-J-Isomers der Phenylpentadecansäure. Diese Beobachtungen wurden auch mit bromierten Phenylfettsäuren in Mäusestudien gemacht (35,36), deren ortho- und para-Bromisomere ähnliche Unterschiede der Aufnahme in die Leber und in das Herz zeigten.

Quotienten der verwendeten markierten Fettsäuren para-J-Phenylpentadecansäure (p-J-PPA) ortho-J-Phenylpentadecansäure (o-J-PPA) und ω -J-Heptadecansäure (ω -J-HA) in Herz und Leber von Kaninchen nach deren i.v. Injektion von 500 μ Ci, 9 min p.i.

Organ	p-J-PPA/o-J-PPA	p-J-PPA/ ω -J-HA
Herz	2.2	0.9
Leber	0.8	0.8

Tabelle 8:

Die Akkumulation der para-J-Phenylpentadecansäure im Herzen ist mit der Akkumulation der J-Heptadecansäure vergleichbar. Die ortho-J-Phenylpentadecansäure akkumuliert nur halb soviel im Herzen wie die para-J-Phenylpentadecansäure. Das Herz/Blut-Verhältnis bzw. das Herz/Leber-Verhältnis war bei der para-J-Phenylpentadecansäure 3,6 bzw. 0,8, bei der J-Heptadecansäure 3,2 bzw. 0,7 und bei der ortho-J-Phenylpentadecansäure 3,1 bzw. 0,3 (siehe Tabelle 7).

Insgesamt schien die p-J-Phenylpentadecansäure auch in den Kaninchenversuchen die bessere Fettsäure für die weitere Verwendung als Radiopharmakon zu sein.

3.2.2. Szintigraphische Herzdarstellung und die Erfassung des Fettsäureumsatzes der para-J-Phenylpentadecansäure im Herzen, im Blut und in der Leber von Kaninchen

3.2.2.1 Herz

Ein typisches Szintigramm von einem Kaninchen in lateraler Projektion nach i.v.-Injektion von 500 μ Ci para-J-123-Phenylpenta-

decansäure 20 Minuten p.i. sieht man mit Hilfe einer Gamma-Kamera in Abb. 22. Das Herz ist deutlich abgegrenzt gegenüber den übrigen Strukturen wie Lunge und Leber und dem intrakardialen Blutraum. Auch Leber und Niere können gut in dem Szintigramm erkannt werden. Szintigramme mit der besten Bildqualität zur Darstellung des Herzens wurden zwischen 3-20 Minuten p.i. erhalten. Das Herz-Untergrund-Verhältnis betrug 2,7 zwischen 20 bis 30 Minuten p.i.

Alle Aufnahmen wurden in dynamischen Mode registriert (Bildfrequenz 1 Bild pro 20 Sekunden), so daß auch die zeitlichen Abläufe in den einzelnen Körperregionen erfaßt werden konnten. In der Regel wurden regions of interest über Herz, Leber und Lunge ausgewählt und von ihnen die Zeit-Aktivitäts-Kurven ausgeschrieben (Abb. 23), bei denen nicht der Blutuntergrund korrigiert wurde.

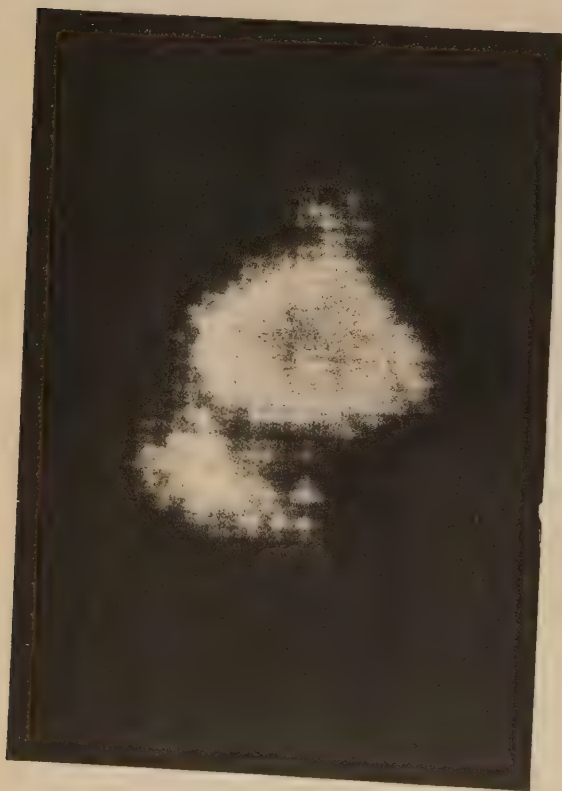


Abb. 22: Typisches Szintigramm eines Kaninchens in lateraler Projektion 20 Minuten nach Injektion von 500 μCi ω -p-J-123-Phenylpentadecansäure.

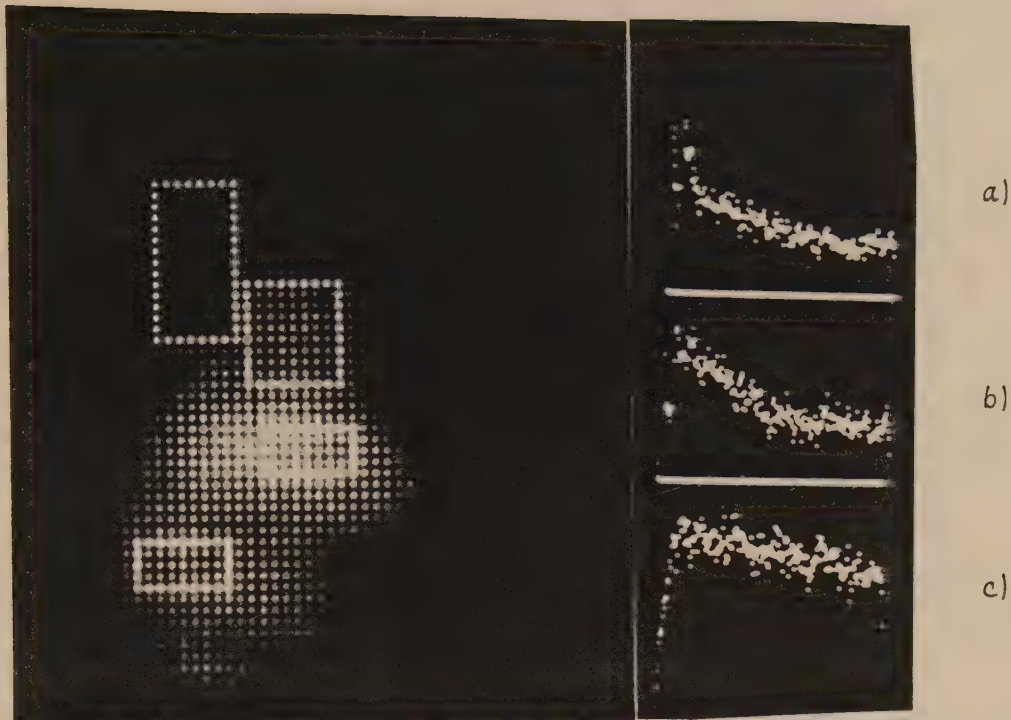


Abb. 23: Ein typisches Szintigramm eines Kaninchens in lateraler Projektion mit Regions of interest über Lunge, Herz, Leber und Niere und entsprechenden Zeitaktivitäts-Kurven über Lunge (1), Herz (b), Leber (c) nach i.v.-Injektion von 500 μCi p-J-123-Phenylpentadecansäure.

Die Untergrund-korrigierte-Herz-Zeit-Aktivitäts-Kurve ist in Abb. 24 dargestellt. Man erkennt eine rasche Akkumulation des Indikators mit einem Maximum 5 Minuten nach Injektion. Die Eliminationsphase der Herz-Zeit-Aktivitäts-Kurve war biexponentiell. Die Eliminations-Halbwertszeiten der para-J-Phenylpentadecansäure bzw. ihrer Metaboliten aus dem Herzen waren 3,5 Minuten für die schnelle Eliminationsphase und 30 Minuten für die langsame Eliminationsphase. In diesem Zusammenhang sollte erwähnt werden, daß diese Daten mit den in den Mäuseexperimenten gefundenen Ergebnissen eng korrelieren (siehe Kapitel Mäuseergebnisse). Die im Szintigramm beobachtete Aktivitätsakkumulation über dem Herzen war tatsächlich an das Myokard gebunden, was bei den Organanalysen der Aktivitätsverteilung im Kaninchen (siehe vorheriges Kapitel) und in der Maus

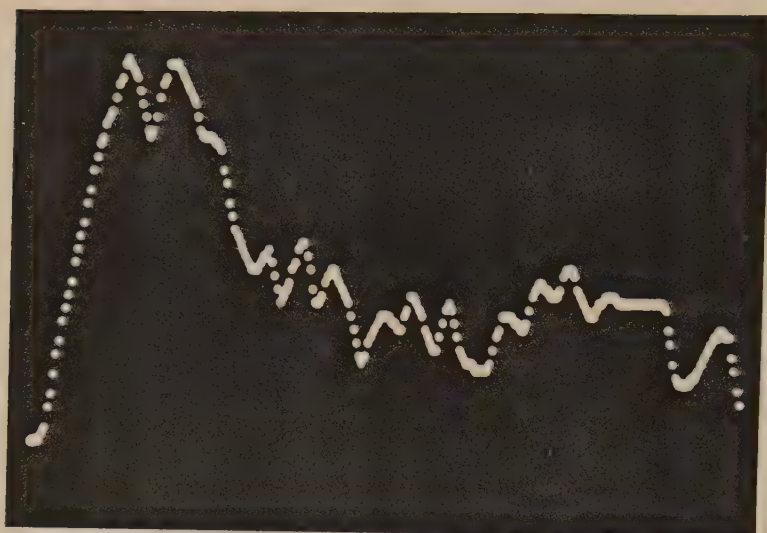


Abb. 24: Typische Herz-Zeit-Aktivitätskurve eines Kaninchens mit Korrektur für den Blutuntergrund nach i.v.-Injektion von 500 μCi p-J-123-Phenylpentadecansäure in 2-3,0 ml Kaninchenserum.

(siehe Kapitel Mäuseergebnisse) gezeigt wurde. Auch das Herz-Blut-Verhältnis von 3,6 bei 9 Minuten p.i. bei der in-vitro-Untersuchung im Kaninchen zeigte eine gute Übereinstimmung mit dem in vivo registrierten Herz-Untergrundverhältnis von 2,7.

Die über dem Herzen registrierte Herz-Zeit-Aktivitäts-Kurve mißt wahrscheinlich nicht nur die rasche Oxidation der para-J-Phenylpentadecansäure zu para-J-Benzoesäure und deren Auswaschung in das Blut, erkennbar an dem raschen Abfall der Aktivität in der schnellen Phase der Herz-Zeit-Aktivitäts-Kurve, sondern auch den Einbau der Fettsäure in die Herzlipide, der aus der langsamen Komponente der Herz-Zeit-Aktivitäts-Kurve der para-J-Phenylpentadecansäure zu ersehen ist.

3.2.2.2. Blut

Als für den Blutraum repräsentativ wurde die über der Lunge registrierte Zeit-Aktivitäts-Kurve ausgewählt (Abb. 23). Sie kann durch einen langsamen, aber konstanten Abfall der Aktivität

beschrieben werden. Die Aktivitätsabnahme ist wahrscheinlich durch die rasche Elimination der Kataboliten der para-J-Phenylpentadecansäure, para-J-Benzoesäure und para-J-Hippursäure, aus dem Blut bedingt. Das Ausbleiben des bei der J-Heptadecansäure beobachteten Aktivitätsanstiegs nach ca. 5 Minuten p.i. (32) ist im Falle der para-J-Phenylpentadecansäure wahrscheinlich auf die schnellen Blut-Eliminations-Halbwertszeiten der Abbauprodukte der para-J-Phenylpentadecansäure zurückzuführen. Die Blut-Eliminations-Halbwertszeit der para-J-Benzoesäure und der para-J-Hippursäure beträgt ca. 20 Minuten. Das Endabbauprodukt der J-Heptadecansäure, Jodid, hat demgegenüber eine Blut-Eliminations-Halbwertszeit von ca. 5,5 Stunden.

3.2.2.3. Leber

Die Leber-Zeit-Aktivitäts-Kurve zeigte einen ähnlichen raschen Aktivitäts-Anstieg wie die Herz-Zeit-Aktivitäts-Kurve und auch einen biexponentiellen Verlauf in der Eliminationsphase. Die Eliminationsphase der Zeit-Aktivitäts-Kurve war jedoch deutlich verlangsamt (siehe Abb. 23). Dieses Verhalten des Tracers in der Leber wurde aber auch in Versuchen mit der J-Heptadecansäure in Kaninchen beobachtet (62). Im Falle der para-J-Phenylpentadecansäure mag dies einerseits das Resultat einer eventuellen Akkumulation und/oder Transformation von Stoffwechsel-Endprodukten der para-J-Phenylfettsäure, para-J-Benzoesäure zu para-J-Hippursäure, in der Leber entsprechen. Andererseits spricht die langsame Elimination der Aktivität aus der Leber für die Elimination von radioaktiv markierten Lipoproteinen in das Blut (62,63). Weiterhin findet nur eine geringe β -Oxidation von Fettsäuren, wahrscheinlich auch im Falle der para-J-Phenyl-

pentadecansäure, in der Leber statt. Der größte Teil der aufgenommenen Fettsäuren wird zunächst zur Synthese von Triglyceriden, Phospholipiden und Cholesteriden verwendet und dann in dieser Form entweder abgelagert oder ins Blut ausgeschieden (62,63).

3.3. Patientenuntersuchungen

3.3.1. Externe Messung der Fettsäuren-Akkumulation im Herzen beim Menschen

3.3.1.1. Herzdarstellung mit Hilfe der para-J-123-Phenylpentadecansäure, der ω -J-123-Heptadecansäure und der ω -p-Br-75-Phenylpentadecansäure im Menschen

Ein typisches Herzbild ohne Korrektur für die Untergrund-Aktivität, das man in der Anterior-Projektion 7 Minuten nach Applikation der ω -J-123-Heptadecansäure von einem gesunden Probanden unter Ruhebedingungen erhält, ist in Abb. 25 dargestellt. Die Herzbilder, die man bei der Verwendung der p -¹²³J-Phenylpentadecansäure erhält, waren ähnlich. In dieser Abbildung ist nur der linke Ventrikel deutlich erkennbar, da die Muskelmasse des rechten Ventrikels zu gering ist, um mit Hilfe der gewählten Farbskala dargestellt werden zu können. Die Verteilung der Aktivität im linken Ventrikel war nach i.v.-Injektion der beiden radioaktiv markierten Fettsäuren gleichmäßig. Das Myokard-Untergrund-Verhältnis betrug in beiden Fällen 2,3:1. Bei 6 gesunden Personen lagen diese Werte zwischen 2,0:1 und 2,9:1 7 Minuten p.i. Die Eliminations-Halbwertszeiten der J-Heptadecansäure im normalen Herzen betrugen 25 Minuten. Sie waren 40 Minuten bei der para-J-Phenylpentadecansäure. In beiden Fällen handelte es sich um Untergrund-korrigierte Werte (siehe Metho-

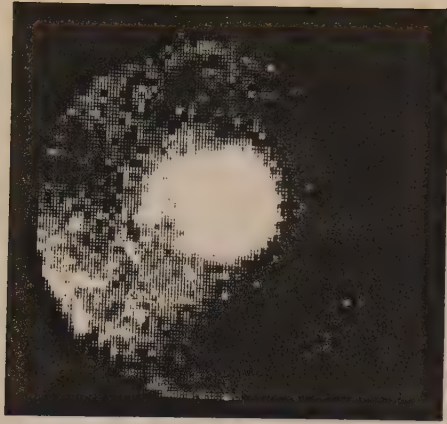
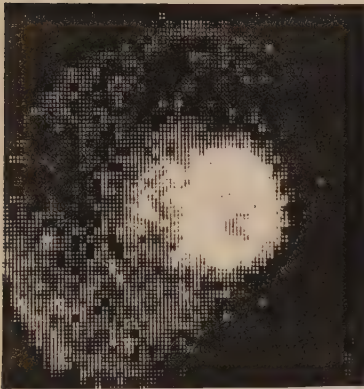
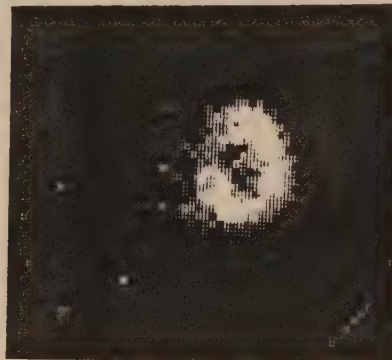


Abb. 25: EKG-getriggerte Herzsintigramme ohne Blutuntergrundkorrektur, erhalten in der a.p.-Projektion, 7 Minuten nach i.v.-Injektion von 0,7 mCi ω -J-Heptadecansäure. Die Aufnahmezeit betrug 3 Minuten.



Original Herzsintigramm nach i.v.-Injektion von 0,7 mCi ω -J-123-Heptadecansäure



Das gleiche Bild nach Untergrundkorrektur

Abb. 26: Normales diastolisches Herzmuskelsintigramm registriert 5 Min. nach intravenöser Applikation von IHA in AP-Projektion (links vor- und rechts nach - Background-Korrektur). Für die Background-Korrektur wurden 500 μ Ci von J-125-NaJ als interner Standard verwendet (26).

den). Die bisherigen Erfahrungen zeigen, daß die Pharmakokinetik es erlaubt, sowohl das Herz in drei Projektionen darzustellen als auch wiederholte Messungen am gleichen Tage durchzuführen.

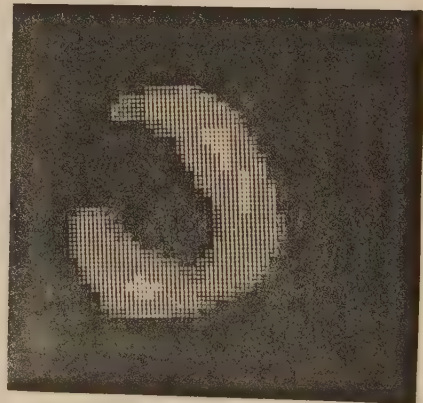
In Untersuchungen mit der J-Heptadecansäure und mit dem heute zur Myokard-Szintigraphie gebräuchlichen Thallium-201 wurde gefunden, daß in beiden Fällen die Szintigramme von gesunden Herzen von vergleichbarer Qualität (64) waren und daß auch die

Akkumulation beider Substanzen im gesunden Herzen ähnlich war (25,65).

Im Falle der J-Heptadecansäure wurde weiterhin eine Untergrundkorrektur nach der Methode von FREUNDLIEB et al. (26) für das durch den Stoffwechsel entstandene freie Jodid-123 durchgeführt, um quantitative Informationen über die J-Heptadecansäure-Verteilung im Myokard zu erhalten und das Herz kontrastreicher darstellen zu können. In Abb. 26 sind die originalen und die Untergrund-korrigierten Bilder dargestellt. Abb. 27 stellt ein normales Herzsintigramm mit dem entsprechenden Herzmodell dar. Die Untergrund-Korrektur bei der para-J-Phenylpentadecansäure wurde nach der Methode von RICHIE et al. (44) durchgeführt. Die Untergrundkorrigierten Bilder zeigen ähnliche Verhältnisse wie bei der ω - ^{123}J -Heptadecansäure. Bei Patienten mit einem alten



Modell



Szintigramm

Abb. 27: Normales EKG-getriggertes, diastolisches Herzsintigramm nach i.v.-Injektion von 1 mCi J-123-Heptadecansäure. Das Herzsintigramm wurde in Höhe der A-V-Klappen mit einer γ -Kamera nach Untergrundkorrektur aufgenommen.



Abb. 28: Typisches EKG-getriggerte Herzsintigramm in a.p.-Projektion von Patienten mit einem alten Vorderwandspitzeninfarkt nach i.v.-Injektion von 1-2 mCi ω -J-123-Heptadecansäure und p-J-123-Phenylpentadecansäure.

Herzinfarkt (s. Abb. 28) und mit koronarer Herzkrankheit (s. Abb. 29) zeigen sich sowohl die infarzierten als auch die ischämischen Regionen als Gebiete mit verminderter Aktivitätsakkumulation sowohl nach Injektion von para-J-Phenyl-Pentadecansäure als auch nach Injektion von J-Heptadecansäure. In Abb. 28 ist ein typisches Herz-Szintigramm von Patienten mit einem Vorderwandinfarkt nach Injektion von para-J-123-Phenylpentadecansäure und der ω -J-123-Heptadecansäure dargestellt. Es fand sich kein Unterschied in der Bildqualität nach i.v.-Injektion zwischen den beiden Fettsäuren. Die infarzierte Zone ist leicht als Akkumulations-Defekt zu erkennen (s. Abb. 28). Während körperlicher Belastung stieg in beiden Fällen die Akkumulation in den normalen Gebieten an; und die Defekte in den ischämischen Gebieten wurden betont. Abb. 29 zeigt das Herzsintigramm eines Patienten mit einer koronaren Herzkrankheit nach i.v.-Injektion von ω -J-123-Heptadecansäure und das

entsprechende Koronararteriogramm. In vergleichenden Studien zwischen Thallium-201 und der J-123-Heptadecansäure zeigt sich sogar, daß bei Verwendung der J-Heptadecansäure die Kontraste zwischen geschädigten Herzmuskelbereichen und normalen Arealen größtenteils ausgeprägter waren (64). Diese Feststellung bestätigen auch Ergebnisse von Tierexperimenten, in denen die myokardiale Aufnahme von radioaktiv markierten Fettsäuren nicht nur abhängig war vom myokardialen Blutfluß, sondern auch



a)

b)

Abb. 29: Herzsintigramm (a) eines Patienten mit koronarer Herzkrankheit mit 30 und 50%igen Stenosen in der rechten Koronararterie im Koronararteriogramm (b). Das Herzsintigramm wurde nach EKG-Triggerung, Untergrundkorrektur, in 60° LAO-Projektion und nach Injektion von 1-2 mCi ω -J-123-Heptadecansäure erhalten.

von einer effizienten Gewebs-Oxidation (17). Unter Hypoxie-Bedingungen und normaler Perfusion war die myokardiale Extraktion von radioaktiv markierten Fettsäuren stark reduziert (7,66,

67,68). Es konnten darüber hinaus in vergleichenden Studien mit der J-123-Heptadecansäure und mit Thallium-201 gezeigt werden, daß in Bereichen, die wiederholten transienten Ischämien ausgesetzt sind, unter Ruhebedingungen, wenn die Perfusion normal ist bei normalem Thallium-201-Szintigramm die Extraktionsfähigkeit für die Fettsäuren im Herzen herabgesetzt sein kann, was bei der Verwendung der J-123-Heptadecansäure ein pathologisches J-123-Heptadecansäure-Szintigramm ergab (64). Dies bedeutet, daß die regionale Akkumulation der J-Heptadecansäure und auch der para-J-Phenylpentadecansäure im Herzen als eine Funktion der lokalen Perfusion und der Extraktionsfähigkeit der myokardialen Zellen verstanden werden muß. Weiterhin kann die Verteilung der J-Heptadecansäure und der para-J-Phenylpentadecansäure-Akkumulation im Myokardium als ein Parameter für

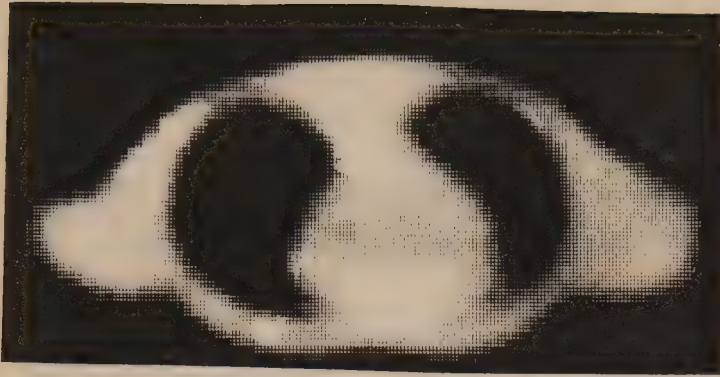


Abb. 30: Herzsintigramm eines Patienten mit einer congestiven Kardiomyopathie nach i.v.-Injektion von 1-2 mCi. ω -J-123-Heptadecansäure in a.p.-Projektion und nach Untergrundkorrektur (Die Aufnahme war nicht EKG-getriggert).

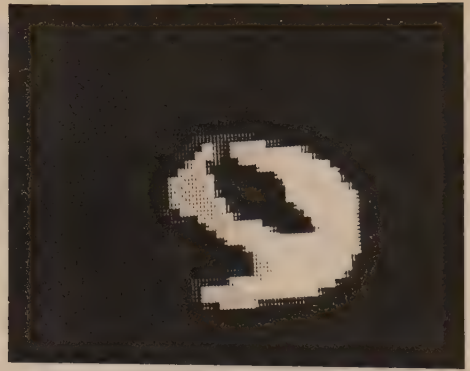
die regionale Verfügbarkeit der Fettsäuren für die Energieproduktion angesehen werden.

Bei Patienten mit einer kongestiven Kardiomyopathie zeigte sich bei Verwendung der J-123-Heptadecansäure eine ungleichmäßige Aktivitäts-Verteilung (siehe Abb. 30), was auf eine diffuse und nicht lokale Störung des Fettsäure-Stoffwechsels im Herzen schließen läßt.

Die ähnliche Pharmakokinetik der para-Brom-Phenylpentadecansäure im Herzen im Vergleich zur para-J-Phenylpentadecansäure und die ähnlichen Abbauprodukte machen diese Substanz geeignet für die in-vivo-Darstellung des Herzens mit Hilfe einer Positronen-Kamera (35,36). Diese Applikation erlaubt möglicherweise eine genauere Quantifikation von Eliminationsraten der Fettsäure-gebundenen Aktivität, um Veränderungen des Herzfettstoffwechsels zu erfassen. In diesem Sinne wurde in ersten Versuchen die Akkumulation von para-Brom-Phenylpentadecansäure in gesunden Probanden untersucht. Nach i.v.-Injektion von 1-2 mCi para-Brom-75-Phenylpentadecansäure wurden in der Höhe des fünften Interkostalraumes jeweils 5 Transversal-Aufnahmen pro Minute gemacht, die EKG-getriggert waren. Der Blutuntergrund wurde nicht korrigiert. Ein typisches Emissionsbild des Herzens, aufgenommen mit dem Emissions-Positronen-Computer-Tomographen sieht man in Abb. 31. Demnach stellt sich die linke und die rechte Herzkammer mit den entsprechenden Muskelwänden ausgezeichnet dar.



Transmissions-Bild



Emissions-Bild

Abb. 31: EKG-getriggertes, diastolisches Herzsintigramm eines gesunden Probanden nach i.v.-Injektion von 1-2 mCi p-Br-75-Phenylpentadecansäure, registriert mit einem Positronen-Emissions-Transaxial-Tomographen in Höhe der A-V-Klappen. Links ist das entsprechende Transmissions-Bild dargestellt.

3.3.1.2. Analyse des Umsatzes der jodierten Fettsäuren im Myokard

Die Grundlage für die Analyse des Umsatzes der radioaktiv markierten Fettsäure im Myokard stellten die Daten dar, die in dynamischen EKG-getriggerten Studien erhalten wurden. In Abb. 32 und 33 sind die Zeit-Aktivitäts-Kurven, die bei der Anwendung der para-J-Phenylpentadecansäure und der J-Heptadecansäure erhalten worden sind, dargestellt. Bei diesen Kurven handelt es sich um Untergrund-korrigierte Daten. Beide Fettsäuren akkumulierten mit einer Halbwertszeit von ca. 2 Minuten. Die Elimination des Indikators folgte bei beiden Substanzen während des Untersuchungszeitraumes einer monoexponentiellen Funktion. Der Untersuchungszeitraum betrug bei der p-J-123-Phenylpentadecansäure 10 Minuten und bei der J-123-Heptadecansäure 45 Minuten. Die Halbwertszeiten der Elimination waren jedoch unterschiedlich. Bei der J-Heptadecansäure waren es 20 Minuten und bei

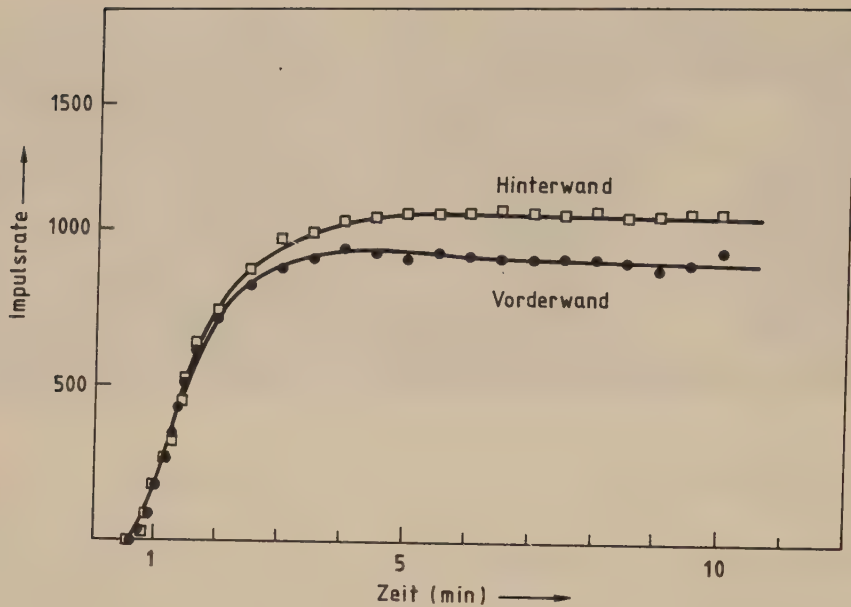


Abb. 32: Typisches Beispiel einer Untergrund-korrigierten normalen Herz-Zeit-Aktivitätskurve nach i.v.-Injektion von 1-2 mCi. ω -p-J-123-Phenylpentadecansäure eines gesunden Probanden.

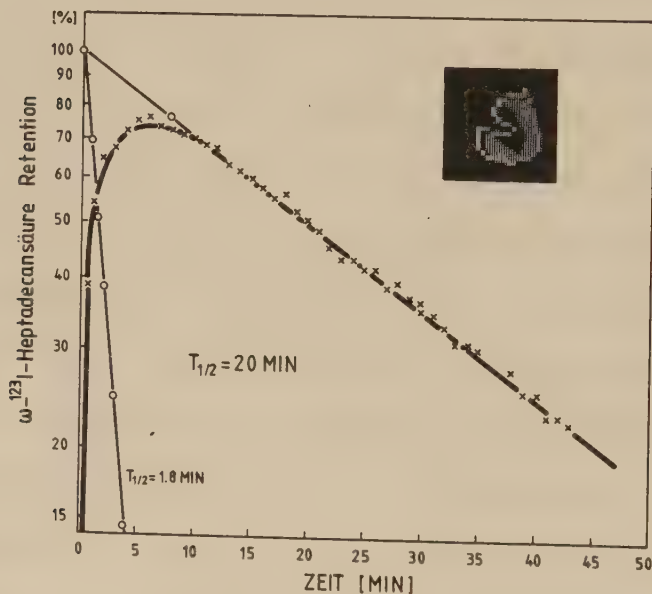


Abb. 33: Typisches Beispiel einer Background-korrigierten normalen Herz-Zeit-Aktivitätskurve nach i.v.-Injektion von 1-2 mCi ω -J-123-Heptadecansäure.

der para-J-Phenylpentadecansäure 40 Minuten. Im Falle der J-Heptadecansäure wurden die gleichen Akkumulations- und Eliminations-Verhältnisse auch bei der Verwendung der ^{11}C -Stearinsäure und der J-123-Hexadecansäure während der ersten 15 Minuten des Untersuchungs-Zeitraums festgestellt (24). Nach 15 Minuten ist die Elimination der ^{11}C -Stearinsäure langsamer als die der J-123-Heptadecansäure. Dieser Unterschied ist nach POE et al. (24) dem raschen Metabolismus der Ausgangs-Komponenten und der folgenden Umverteilung der Produkte zuzuschreiben. Das Erscheinen des Radiojodids der J-Hexadecansäure ist nach POE et al. (24) das Resultat der β -Oxidation in Verbindung mit der Hydrolyse des letzten radiojodierten metabolischen Produktes, Jodacetat. Dieses wird schnell dejodiert und erscheint als Jodid im Blutkreislauf (24). In der ^{11}C -Stearinsäure ist das markierte ^{11}C -Atom in der Carboxylgruppe, welches im Laufe der Verstoffwechselung entweder zu CO_2 oxidiert und abgeatmet wird oder in andere organische Moleküle des Herzens eingebaut wird (24). Die Wiederverstoffwechselung der ^{11}C -Palmitinsäure-Abbauprodukte (z.B. ^{11}C -Acetyl-CoA) erklärt möglicherweise die zweite, langsame Eliminationsphase der ^{11}C -Stearinsäure. SOBEL et al. (13,14) deuten demgegenüber die langsame Komponente bei der ^{11}C -Palmitinsäure als den Einbau der Palmitinsäure in Herzlipide. Unsere Experimente weisen darauf hin, daß die Fettsäuren zwar in die Herzlipide eingebaut werden, daß jedoch der Umsatz der Fettsäuren in den Herzlipiden sehr schnell ist (siehe Kapitel Herzanalysen).

Die Eliminationsphase der para-J-Phenylpentadecansäure in der Zeit-Aktivitäts-Kurve ist im Vergleich zu der der J-Heptadecansäure und der ^{11}C -Palmitinsäure deutlich langsamer bei sonst

gleichen Akkumulations-Verhalten. Dies deutet darauf hin, daß diese an sich unphysiologische Fettsäure initial zu einem geringeren Teil der β -Oxidation unterliegt und wahrscheinlich vermehrt in die Herzlipide eingebaut wird, bevor sie dem Katabolismus zugeführt wird. Diese Feststellung wird auch durch die Ergebnisse in den Mäuseversuchen unterstützt, wo sich ein größerer Aktivitäts-Anteil in der langsamen Phase der Herz-Zeit-Aktivitäts-Kurve im Vergleich zur J-Heptadecansäure und der ^{11}C -Palmitinsäure findet. Obwohl der genaue Mechanismus der Verlangsamung zur Zeit noch nicht genug bekannt ist, darf man annehmen, daß durch den jodierten Phenylrest der para-J-Phenylpentadecansäure die Fettsäureabspaltung aus den Triglyceriden behindert wird (siehe auch Kapitel Herzanalysen).

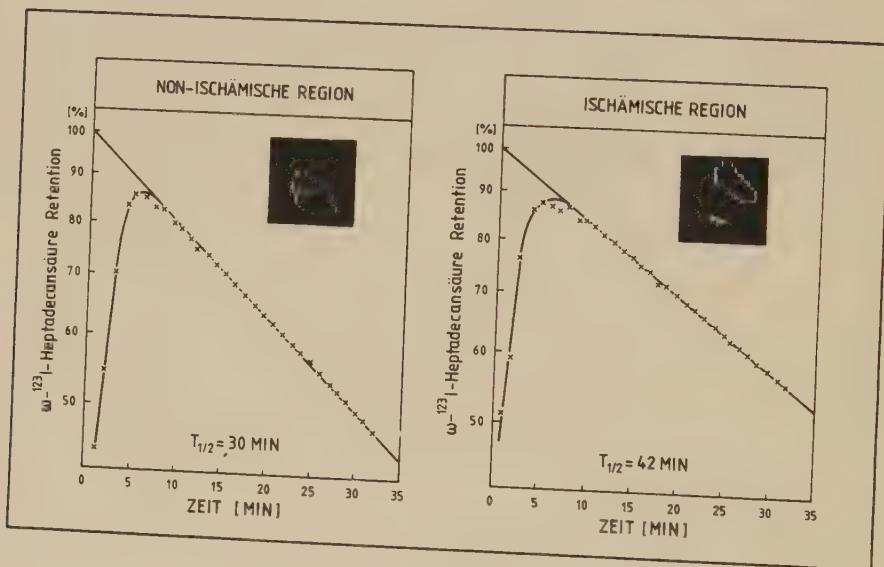


Abb. 34: Regionale ω -J- ^{123}I -Heptadecansäure-Zeit-Aktivitätskurven bei einer koronaren Herzerkrankung. Aktivitätsverläufe in Bereichen der normalen bzw. reduzierten Akkumulation sind links bzw. rechts dargestellt.

Die Zeit-Aktivitäts-Kurven von Patienten mit einer koronaren Herzkrankheit nach Injektion der J-Heptadecansäure sind in Abb. 34 dargestellt.

Im ischämischen Bereich des linken Ventrikels betrug die Halbwertszeit der J-Heptadecansäure-Elimination 42 Minuten. Die Eliminations-Halbwertszeit der J-Heptadecansäure war 30 Minuten für die nicht-ischämischen Herzareale. Aufgrund der Ergebnisse bei den Versuchen mit der J-Heptadecansäure wurden die Patienten mit einer koronaren Herzkrankheit eingeteilt in 2 Gruppen hinsichtlich ihres Fettsäureumsatzes. Die erste Gruppe zeigte in den Gebieten der Akkumulations-Defekte verlängerte Halbwertszeiten der Jod-Heptadecansäure-Elimination (30-70 Minuten). Die zweite Gruppe ergab in den Gebieten der Akkumulations-Defekte normale oder leicht verkürzte Halbwertszeiten der J-Heptadecansäure-Elimination. Unter Belastung zeigten beide Gruppen in den Akkumulations-Defekt-Gebieten verlängerte Halbwertszeiten. In normalen Gebieten wurden keine Belastungs-abhängigen Änderungen der Halbwertszeiten der J-Heptadecansäure-Elimination festgestellt. Bei 3 Patienten, ein Patient mit einer verlängerten und 2 Patienten mit normalen Halbwertszeiten der J-Heptadecansäure-Elimination in den Gebieten der Akkumulations-Defekte, wurde die Messung vor und nach der Koronar-Arteriendilatation durchgeführt. Bei den 2 Patienten mit den normalen Halbwertszeiten der J-Heptadecansäure-Elimination in den Gebieten der Akkumulations-Defekte verschwanden diese Defekte nach Arterien-Dilatation. Dies wurde nicht bei dem Patienten mit der verlängerten Halbwertszeit der J-Heptadecansäure-Elimination beobachtet. Die Resultate der Dünnschicht-

Chromatographie (siehe Kapitel Herzanalysen), die im Einklang mit elektronenmikroskopischen Beobachtungen von STEIN et al. (5,69) stehen, sprechen dafür, daß die meisten Fettsäuren während der Aufnahme in die myokardialen Zellen zunächst in einen Triglycerid-Pool wandern, der als ein sehr schnell mobilisierbares freies Fettsäure-Depot dient. Nur ein kleinerer Teil der aufgenommenen Fettsäuren wird direkt via Carnitin-System der β -Oxidation zugeführt. Daraus folgt, daß bei der Interpretation der J-Heptadecansäure-Eliminationsraten aus dem Myokard zunächst an eine Möglichkeit der Veränderungen im Triglycerid-Pool gedacht werden muß. Da entsprechend den Experimenten von IDELL-WENGER et al. (70) im ischämischen Herzen die Verfügbarkeit des Carnitins im Cytosol stark reduziert ist, muß stets bei der Interpretation der J-Heptadecansäure-Eliminationsraten berücksichtigt werden, daß neben den Veränderungen im Triglycerid-Pool auch die Carnitin-Verfügbarkeit im Cytosol für den Katabolismus der Fettsäuren zeitlimitierend und damit für die Eliminationsraten bestimmend sein kann. Es gibt jedoch auch tierexperimentelle Daten, die darauf hindeuten, daß unter Ischämie-Bedingungen die β -Oxidation sehr stark verlangsamt sein kann (17), so daß die Veränderungen der Eliminationsraten auch Ausdruck der Veränderungen der Geschwindigkeit der β -Oxidationen selbst sein können. Unter Berücksichtigung dieser Resultate muß geschlossen werden, daß die Analyse der J-Heptadecansäure-Eliminationsraten und auch der p-J-Phenylpentadecansäure-Eliminationsraten Informationen bieten, die eine integrierte Beurteilung der allgemeinen Lage der Energieproduktion in einzelnen Myokardsegmenten ermöglicht.

Im Gegensatz zu der J-Heptadecansäure zeigt die Zeit-Aktivitäts-Kurve nach Injektion von para-J-Phenylpentadecansäure bei den Patienten mit einer hochgradigen koronaren Drei-Gefäß-Erkrankung verlangsamte Akkumulations-Halbwertszeiten von 5-10 Minuten (Abb. 35). Die Analyse der Aufnahmezeiten zeigt, daß die Aufnahme der para-J-Phenylpentadecansäure unter diesen Bedingungen aus dem Blut gestört ist. Unterschiede in den Eliminations-Halbwertszeiten der para-J-Phenylpentadecansäure waren im Vergleich zu normalen Herzen nicht nachweisbar. Hierbei muß jedoch berücksichtigt werden, daß die Bestimmung dieser Größe aus meßtechnischen Gründen aufgrund der Kurvenmeßzeit nicht als relevant angesehen werden kann. Die Eliminations-Halbwertszeiten scheinen erheblich länger zu sein als die gewählte Meßperiode.

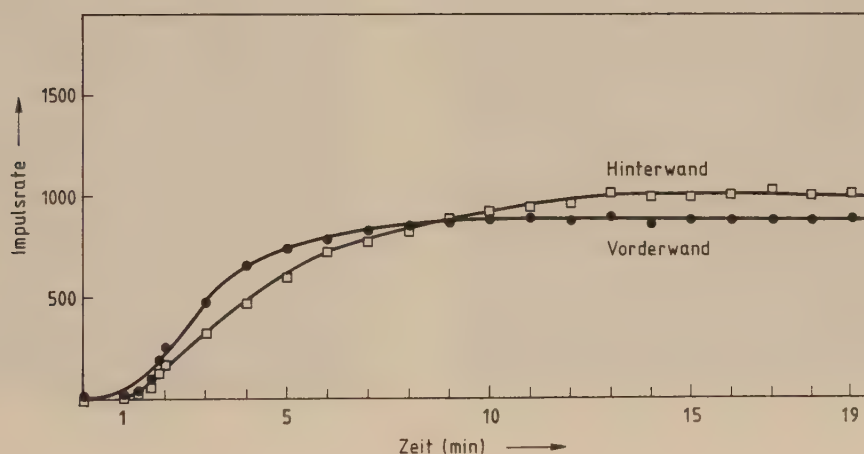


Abb. 35: Regionale w-p-J-123-Phenylpentadecansäure Zeit-Aktivitätskurve bei einer koronaren Herzerkrankung (Drei-Gefäß-Erkrankung).

Weiterhin wurden 4 Patienten mit einer kongestiven Kardiomyopathie nach Applikation von J-123-Heptadecansäure untersucht. Die Kardiomyopathie wurde durch eine Myokardbiopsie diagnostiziert. Die Verteilung der lokalen Raten der J-Heptadecansäure-Elimination wurde bestimmt. Ein typisches Beispiel dieser Verteilung sieht man in Abb. 36. In dieser Abbildung sind die lokalen Raten der J-Heptadecansäure-Elimination bei den Patienten mit der Kardiomyopathie erkennbar. Die höchsten Eliminationsraten werden durch den hellsten Farbton repräsentiert. Aus dieser Abbildung ist zu ersehen, daß in diesem Fall die Verteilung der Eliminationsraten der J-Heptadecansäure nicht homogen ist. Es gibt Gebiete mit normalen, signifikant verkürzten (7-11 Minuten) und Gebiete mit verlängerten (30-40 Minuten) Halbwertszeiten der J-Heptadecansäure-Elimination. In Abb. 37 ist das



Abb. 36

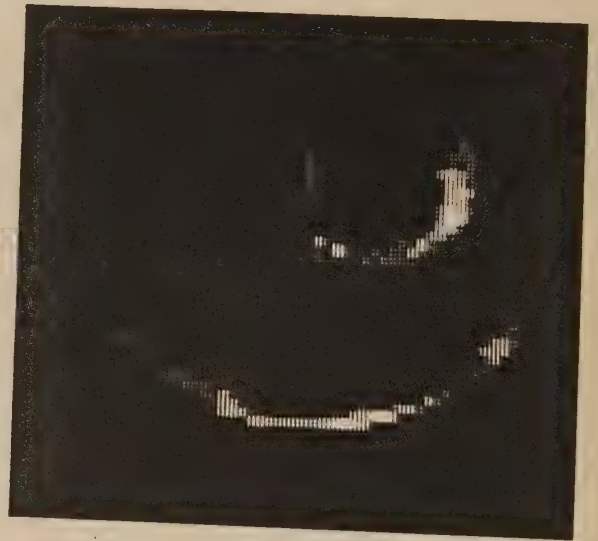


Abb. 37

Abb. 36: Verteilung der J-123-Heptadecansäure-Eliminationsraten bei einem Patienten mit einer kongestiven Kardiomyopathie. Die höchsten Eliminationsraten werden durch den hellsten Farbton repräsentiert.

Abb. 37: EKG-getriggertes, Untergrund-korrigiertes J-123-Heptadecansäure-Herzszintigramm bei einem Patienten mit einer kongestiven Kardiomyopathie. Inhomogene Verteilung der Aktivität.

J-Heptadecansäure-Szintigramm, registriert bei dem gleichen Patienten, dargestellt. Man sieht, daß bei der congestiven Kardiomyopathie die Akkumulation der J-Heptadecansäure im Myokard auch inhomogen ist. Der Vergleich der Verteilung der Eliminationsraten mit der Verteilung der J-Heptadecansäure-Akkumulation ergab im Falle der congestiven Kardiomyopathie keine Korrelation zwischen diesen Verteilungen.

4. ZUSAMMENFASSUNG

4.1. Einleitung

Langkettige Fettsäuren sind eine der Hauptenergiequellen im gesunden Myokard. Die Aufnahme der Fettsäuren ist bei Anoxie, Hypoxie, Ischämie und bei diffusen Stoffwechselstörungen, wie z.B. bei der Kardiomyopathie des Herzmuskels verändert. Radioaktiv markierte Fettsäuren sind daher von großem Interesse für die nuklearmedizinische Diagnostik. Voraussetzung für die Untersuchung des gestörten Herzmuskelstoffwechsels ist die Einführung geeigneter Radionuklide. Vom Standpunkt der Synthese, der Detektion und der Strahlenbelastung sind die Halogenisotope Brom-75 ($t_{1/2} = 98$ Minuten) und J-123 ($t_{1/2} = 13,3$ Stunden) sowie das Kohlenstoff-Isotop C-11 ($t_{1/2} = 20,3$ Minuten) sehr geeignet.

In Anlehnung an die Arbeiten von KNOOP et al. wurde für die Stoffwechseluntersuchungen im Herzen die Phenylpentadecansäure mit Jod markiert und als Indikator eingesetzt. Diese am Phenylring jodierte Phenylpentadecansäure versprach im Vergleich zu anderen halogenierten Fettsäuren wie der ω -J-Heptadecansäure folgende Vorteile:

1. Verlangsamung des Fettsäurestoffwechselumsatzes im Herzen.
2. Fehlende Dejodierung des Radiopharmakons und deren Kataboliten und
3. schnelle Elimination der Kataboliten aus dem Organismus.

Es war Ziel der vorliegenden Arbeit, die Pharmakokinetik dieser Fettsäure im Organismus zu untersuchen.

4.2. Resultate der biochemischen Analysen

Bei den einzelnen Experimenten wurden die zur Verfügung stehenden Fettsäuren, ω -para-J-123-Phenylpentadecansäure, ω -ortho-J-123-Phenylpentadecansäure, ω -para-Br-75-Phenylpentadecansäure und ω -J-123-Heptadecansäure zunächst mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie gereinigt und identifiziert.

Für die Elution wurden organische Lösungsmittel verwandt.

In 16 Kaninchen wurden in 2 - 5 ml Kaninchen-Serum 0,5 - 1 mCi para-J-123-Phenylpentadecansäure, ω -ortho-J-123-Phenylpentadecansäure und ω -J-123-Heptadecansäure intravenös injiziert. Der Vergleich der akkumulierten Aktivität in den einzelnen Geweben ergab daß die Stellung des Halogen-Atoms am Phenylring para- oder ortho-Position der Phenylpentadecansäure wesentlich die Aufnahme in das Herz und in andere Organe wie z.B. Leber, Lunge und Blut beeinflußt. Die Akkumulation der para-J-123-Phenylpentadecansäure war z.B. im Herzen signifikant höher als die von der ortho-J-123-Phenylpentadecansäure. Sie war jedoch mit der Akkumulation der ω -J-123-Heptadecansäure vergleichbar. Auch das Herz-Blut-Verhältnis von 3,6 und das Herz-Leber-Verhältnis von 0,8 war bei der para-J-Phenylpentadecansäure signifikant höher als bei der ortho-J-Phenylpentadecansäure (3,1 und 3,0). Deshalb wurde in den weiteren Versuchen die para-J-123-Phenylpentadecansäure als die zu untersuchende Substanz ausgewählt.

In den Mäuseexperimenten wurden die Fettsäuren in eine 5%ige Human- oder Rinderserum-Albuminlösung aufgenommen. Die Konzentration der Fettsäurelösung war 1-30 μ Ci/ml. 90 % der markierten Fettsäuren waren an Albumin reversibel gebunden. 129 weiblichen NMRI-Mäusen wurden in 0,1 - 0,2 ml 1 - 1,5 μ Ci der ω -para-

J-123-Phenylpentadecansäure und der ω -J-123-Heptadecansäure in die Schwanzvene injiziert. Zu verschiedenen Zeiten von 0,25 Minuten bis 35 Minuten p.i. wurden den Tieren die Herzen (alleiniges Zielorgan bei der Untersuchung mit der J-123-Heptadecansäure) die Lunge, die Leber, die Nieren, der Magen, der Darm und das Blut entnommen und die vorhandene Aktivitätsakkumulation im Szintillationszähler/g Herz und pro Herz bestimmt.

Diese Experimente zeigten, daß die para-J-123-Phenylpentadecansäure mit gleicher Geschwindigkeit wie die J-Heptadecansäure und die C-11-Palmitinsäure aus dem Blut eliminiert wurde. Der niedrigere Blut-Aktivitäts-Spiegel der para-J-Phenylpentadecansäure im Vergleich zur Heptadecansäure konnte mit dem schnelleren Eliminations-Verhalten der Endkataboliten der J-Phenylpentadecansäure - der Benzoessäure und der Hippursäure - erklärt werden.

Im Magengewebe fand sich bei der para-J-Phenylpentadecansäure im Gegensatz zur J-Heptadecansäure nur ein minimaler Anteil von Radioaktivität, der vergleichbar war mit der nach Applikation der C-11-Palmitinsäure, was auf eine fehlende Dehalogenierung der J-Phenylpentadecansäure und deren Kataboliten im Organismus schließen läßt. Die Aktivitäts-Elimination aus der Leber war im Vergleich zum Herzen wesentlich langsamer ähnlich wie bei den anderen halogenierten Fettsäuren, wie z.B. bei der J-Heptadecansäure. In den Nieren, Lungen, Darm und Fettgewebe wurden unterschiedliche Aktivitätsverläufe nach i.v.-Injektion der para-J-Phenylpentadecansäure gefunden.

Im Herzen wurde bei der Verwendung der para-J-Phenylpentadecansäure ein ähnliches Akkumulationsverhalten wie bei der C-11-Palmitinsäure und der J-Heptadecansäure gefunden. Dies läßt dar-

auf schließen, daß der Phenylrest der para-J-Phenylpentadecansäure keine sterische und/oder induktive Behinderung bei der Aufnahme dieser Substanz in die Herzmuskelzelle darstellt. Die Eliminationsphase der Aktivität der para-J-Phenylpentadecansäure zeigte, wie bei der C-11-Palmitinsäure und der J-Heptadecansäure zwei Komponenten - eine schnelle und eine langsame Komponente. Die Halbwertszeiten dieser Komponenten waren bei der para-J-Phenylpentadecansäure im Vergleich zur C-11-Palmitinsäure und der J-Heptadecansäure wesentlich länger. Auch der Anteil der Fettsäuren-gebundenen Aktivität, die sich in der langsamen Phase fand, war bei der para-J-Phenylpentadecansäure erheblich größer als dies bei der C-11-Palmitinsäure und bei der J-123-Heptadecansäure der Fall war. Diese Resultate deuten darauf hin, daß eine Veränderung der Metabolisierung der para-J-Phenylpentadecansäure durch den jodierten Phenylrest in der Herzzelle zu erwarten ist.

Aus der Analyse des zeitlichen Verlaufs der Herz-Blut-Verhältnisse und der Herz-Leber-Verhältnisse der para-J-Phenylpentadecansäure in der Maus kann geschlossen werden, daß bei Anwendung der para-J-Phenylpentadecansäure unter in-vivo-Bedingungen die Abgrenzung des Herzens zu den umgebenden Strukturen im Gegensatz zur J-Heptadecansäure bei der szintigraphischen Darstellung wesentlich besser möglich sein wird.

Auch bei der Fraktionierung des Herzgewebes konnten eindeutige Unterschiede zwischen dem kinetischen Verhalten der para-J-Phenylpentadecansäure und der J-Heptadecansäure in den einzelnen Fraktionen festgestellt werden. Es zeigte sich, daß bei der para-J-Phenylpentadecansäure wesentlich mehr Aktivität in der

organischen Phase und im Geweberest retiniert und langsamer daraus eliminiert wurde, was auf eine sterische und/oder induktive Behinderung der Hydrolyse der para-J-Phenylpentadecansäure aus den Lipidspeichern der Herzzelle durch den jodierten Phenylrest und/oder auf einen behinderten Transport der para-J-Phenylpentadecansäure und deren Abbau in den Mitochondrien schließen läßt.

Die dünnschichtchromatographischen Analysen der organischen Phase zeigten, daß ein Teil der aufgenommenen Fettsäuren zuerst in Phospholipide und Triglyceride eingebaut werden, um dann nach deren Hydrolyse der β -Oxidation in den Mitochondrien zugeführt zu werden. Dies weist auf einen Triglyceridspeicher innerhalb der Herzzelle mit einem hohen und schnellen Umsatz hin. Der Anteil an freien Fettsäuren war ausgesprochen klein. Die Eliminationskinetik der Fettsäuren war bei der para-J-Phenylpentadecansäure im Vergleich zur J-Heptadecansäure aus der Triglycerid- und der Phospholipid-Fraktion deutlich langsamer, was möglicherweise auf eine Behinderung der an der Hydrolyse beteiligten Enzyme durch den jodierten Phenylrest deuten könnte.

Diese Resultate wurden durch die Analyse der wässrigen Phase unterstützt. Bei diesen Analysen zeigte sich, daß der Anteil der Kataboliten bei der J-Heptadecansäure (Jodid) erheblich größer war, als dies bei der Analyse der Kataboliten der para-J-Phenylpentadecansäure - Benzoessäure und Hippursäure - der Fall war. Dies deutet darauf hin, daß unter Umständen eine geringere direkte Oxidation der para-J-Phenylpentadecansäure stattfindet. Möglicherweise spricht dies für eine gestörte Enzymsubstrat-Interaktion bei der para-J-Phenylpentadecansäure im Gegensatz zur

J-Heptadecansäure. Jedoch muß bei der Interpretation dieser Daten berücksichtigt werden, daß unter Umständen auch

1. ein geringer Anteil an para-J-Phenylpentadecansäure der β -Oxidation zugeführt werden könnte,
2. die para-J-Phenylpentadecansäure die β -Oxidation selbst hemmen könnte,
3. eine gestörte Enzymsubstrat-Interaktion im Falle der para-J-Phenylpentadecansäure stattfinden kann,
4. eine Abspaltung von Jodid bei der J-Heptadecansäure möglich sein kann.

Die Analyse des Verlaufs der prozentualen Aktivitätsverteilung der gesamten organischen Phase minus der Benzoessäure-Fraktion mit dem Aktivitätsverlauf in der Benzoessäure-Fraktion in den Versuchen mit der para-J-Phenylpentadecansäure ergab, daß sich diese Größen in einer Vorläufer-Produktbeziehung befinden.

In drei NMRI-Mäusen wurde weiterhin 1 - 2 Ci C-14-markierte Benzoessäure in 0,1 - 0,2 ml 0,9%iger physiologischer NaCl-Lösung intravenös injiziert, um eine eventuelle Akkumulation der Kataboliten der para-J-Phenylpentadecansäure im Herzgewebe zu testen. Die geringe Akkumulation von Benzoessäure-Aktivität im Herzen nach i.v.-Injektion von C-14-markierter Benzoessäure zeigte jedoch, daß eine Rückverteilung der Kataboliten der para-J-Phenylpentadecansäure, para-J-Benzoessäure und para-J-Hippursäure, aus anderen Fettsäuren metabolisierenden Organen zu vernachlässigen ist.

4.3. Szintigraphische Darstellung und externe Analyse des Fettsäure-Stoffwechsels des Herzens unter Verwendung einer Gamma-Kamera und der Emissions-Positronen-Tomographie mit radioaktiv markierten Fettsäuren in verschiedenen Stoffwechselsituationen

In 8 Kaninchen wurden 0,5 - 1 mCi para-J-123-Phenylpentadecansäure in 2 - 5 ml Kaninchenserum gelöst, intravenös injiziert und die Aktivitätsverteilung mit einer Gamma-Kamera registriert und Zeit-Aktivitäts-Kurven ausgeschrieben. Die Analyse der Background-korrigierten Zeit-Aktivitäts-Kurven für das Herz, die Leber und die Lunge ~~(repräsentativ für den Blutraum)~~ zeigten eine gute Korrelation mit den in vitro erhaltenen Daten. Dies zeigt, daß eine externe Erfassung der Perfusion des Herzens, der metabolischen Annahme und der Verstoffwechselung der Fettsäuren im Myokard möglich ist.

Bei den Patienten-Untersuchungen wurden 1 - 2 mCi para-J-123-Phenylpentadecansäure, ω -J-123-Heptadecansäure und para-Br-75-Phenylpentadecansäure in 2 - 5 ml Patientenserum gelöst. Die Aktivitätsverteilung wurde nach i.v.-Injektion von J-123-Heptadecansäure und para-J-123-Phenylpentadecansäure mit einer Gamma-Kamera und nach i.v.-Injektion von para-Br-75-Phenylpentadecansäure mit einem Emissions-Positronen-Tomographen registriert. Es wurden 9 gesunde Personen, 11 Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung, 5 Patienten mit einem älteren Herzinfarkt und 3 Patienten mit einer kongestiven Kardiomyopathie untersucht. In allen Fällen wurden bei der Verwendung der para-J-Phenylpentadecansäure über verschiedenen Herzbezirken Zeit-Aktivitäts-Kurven ausgeschrieben und die Halbwertszeiten

der Aktivitäts-Akkumulation und der Elimination der injizierten Aktivität im Herzen bestimmt. Sowohl bei der J-Heptadecansäure als auch bei der para-J-Phenylpentadecansäure konnte eine gute szintigraphische Herzdarstellung erreicht werden. Bei Patienten mit einem Herzinfarkt konnten die infarzierten Bereiche sowohl nach Injektion der para-J-Phenylpentadecansäure als auch nach Injektion der J-Heptadecansäure eindeutig erkannt werden. Bei Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung stellten sich die hypoxischen und die ischämischen Herzbezirke in den entsprechenden Herzsintigrammen als Aktivitäts-Akkumulations-Defekte deutlich dar. Die Ausdehnung und die Lokalisation dieser Defekte konnten gut mit den koronar-angiographischen Befunden korreliert werden. Bei Patienten mit einer Kardiomyopathie stellte sich eine inhomogene Aktivitätsverteilung dar, die auf eine globale, diffus verteilte Herzmuskelstörung schließen läßt.

Der Vergleich der Zeit-Aktivitäts-Kurven bei gesunden Personen zeigte, daß die Akkumulations-Halbwertszeiten bei der para-J-Phenylpentadecansäure und der J-Heptadecansäure gleich sind. Die Eliminations-Halbwertszeiten waren jedoch unterschiedlich. Dies deutet auf eine Veränderung der Katabolisierung der para-J-Phenylpentadecansäure, ähnlich wie bei den in den Mäuseexperimenten gefundenen Ergebnisse hin.

Bei Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung zeigten sich bei Verwendung der J-Heptadecansäure bei verwendeter Akkumulation die gleichen Akkumulations-Zeiten wie im gesunden Herzen, aber veränderte Eliminations-Halbwertszeiten, die auf eine gestörte Metabolisierung dieser Fettsäure in den entsprechenden Regionen des Myokards hinweisen. Bei der Verwendung der para-

J-Phenylpentadecansäure kommt es wahrscheinlich darüber hinaus auch zu einer Veränderung der Akkumulations-Halbwertszeiten in den entsprechenden hypoxischen bzw. ischämischen Myokardbereichen.

Bei Patienten mit einer kongestiven Kardiomyopathie ergab sich bei Verwendung der J-Heptadecansäure eine inhomogene Verteilung der akkumulierten Aktivität. Die Analyse des Fettsäure-Umsatzes zeigte darüber hinaus, daß bei der kongestiven Kardiomyopathie auch eine inhomogene Verteilung der Eliminationsraten zu erwarten ist. Ein Vergleich der Areale mit der gestörten Verteilung und der gestörten Akkumulation ergab keine Korrelation im Falle der kongestiven Kardiomyopathie im Gegensatz zu den Untersuchungen bei Patienten mit ischämisch geschädigten Herzen.

Die Untersuchung der gesunden Probanden mit Hilfe der PositronenKamera und der ω -para-Br-75-Phenylpentadecansäure zeigte, daß dieser Indikator eine ähnliche Pharmakokinetik im Organismus wie die para-J-Phenylpentadecansäure aufweist. Die Positronen-Emissions-Tomographie erlaubt möglicherweise eine dreidimensionale Quantifikation der Elimination der Fettsäure-gebundenen Aktivität. Das Herz kam bei diesen gesunden Personen mit den linken und rechten Ventrikel-Wänden gut zur Darstellung. Die ersten Erfahrungen mit dieser Fettsäure lassen den Schluß zu, daß man eine lokale Veränderung des Fettsäurestoffwechsels und die Ausdehnung von infarzierten und ischämischen Regionen im Herzen mit großer Genauigkeit unter in-vivo-Bedingungen erfassen kann.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die ω -para-J-123-Phenylpentadecansäure und die ω -J-123-Heptadecansäure zur Dar-

stellung des Herzens und zur regionalen Erfassung des myokardialen Stoffwechsels in vivo angewendet werden können. Möglicherweise bietet jede dieser beiden Fettsäuren bei der in-vivo-Messung verschiedene Informationen hinsichtlich der Veränderung der Akkumulation und der Elimination der im Stoffwechsel involvierten Aktivität unter verschiedenen pathologischen Stoffwechsel-Situationen.

5. Anhang

5.1. Tabellen

% der injizierten Dosis/g Gewebe nach i.v. Injektion von p-J-Phenylpentadecansäure								
Zeit (min)	Herz	Leber	Blut	Lunge	Niere	Magen	Darm	Fett
0.25	20.4 ₃ ± 2.5							
0.5	26.0 ₄ ± 1.4	8.9 ₇ ± 3.4	6.2 ₉ ± 3.5	13.3 ₆ ± 2.9		0.6 ₅ ± 0.2		
1.0	32.5 ₅ ± 3.0	15.9 ₈ ± 2.8	3.5 ± 1.3	8.0 ₇ ± 1.2		0.4 ₆ ± 0.1		
2.0	27.9 ₆ ± 4.0	17.1 ₁₂ ± 4.8	1.4 ₆ ± 0.8	6.3 ₆ ± 1.1	3.0 ₃ ± 0.8	0.6 ₆ ± 0.2	1.1 ₃ ± 0.4	1.1 ₃ ± 0.9
3.0	31.7 ₉ ± 3.2	14.5 ₁₂ ± 2.5	1.7 ₉ ± 0.5	7.9 ₇ ± 0.6	11.2 ₃ ± 3.4	0.9 ₆ ± 0.2		
5.0	23.7 ₅ ± 3.9	14.9 ₄ ± 0.6	2.4 ₅ ± 0.4	6.2 ₄ ± 1.8	6.2 ₃ ± 4.7	0.6 ₅ ± 0.1	2.6 ₃ ± 1.7	1.0 ₃ ± 0.7
7.0	19.8 ₆ ± 2.4	14.6 ₆ ± 2.3	2.5 ₆ ± 0.6	6.4	6.9 ₆ ± 0.9	0.7	0.7	1.8
10.0	15.9 ₉ ± 4.7	9.6 ₉ ± 3.6	1.9 ₅ ± 0.6	6.1 ₄ ± 1.3	5.8 ₄ ± 1.3	0.8 ₄ ± 0.1	2.2 ₃ ± 1.1	0.9 ₃ ± 0.7
14.0	11.6 ₃ ± 0.5	5.9 ₃ ± 1.1	1.9 ₃ ± 1.2	4.3 ₃ ± 0.7	4.0 ₃ ± 1.1	0.5 ₃ ± 0.3	2.2 ₃ ± 1.5	1.2 ₃ ± 1.3
20.0	12.0 ₄ ± 2.7	7.8 ₄ ± 2.9	2.8 ₄ ± 1.2	5.1 ₄ ± 1.1	3.7 ₂ ± 1.8	0.7 ₃ ± 0.4	2.2 ₂ ± 1.0	1.5 ₂ ± 0.9
25.0	10.9 ₃ ± 4.3	7.3 ₃ ± 2.0	2.2 ₃ ± 0.4	4.6 ₃ ± 1.1	2.7 ₄ ± 1.2	1.2 ₃ ± 0.3	2.0 ₃ ± 0.6	2.0 ₃ ± 0.9
30.0	8.4 ₆ ± 5.0	6.9 ₆ ± 3.2	2.0 ₆ ± 0.7	1.1 ₃ ± 0.6	2.4 ₅ ± 1.0	0.7 ₃ ± 0.4	0.8 ₂ ± 0.4	0.4 ₂ ± 0.0
35.0	7.9 ₃ ± 1.3	7.5 ₃ ± 1.7	3.1 ₃ ± 0.5	4.1 ₄ ± 1.8	3.6 ₄ ± 1.6	0.8 ₃ ± 0.1	2.6 ₃ ± 0.5	1.3 ₃ ± 0.6

Tabelle 9:

% Anteil der Aktivitätsverteilung ($\bar{x} \pm s$) in den einzelnen Fraktionen nach i.v. Injektion von p-J-131 Phenylpentadecansäure			
Zeit (min)	organische Phase	wässrige Phase	Geweberest
0.25	52.3 ₃ ±2.0	7.3 ₃ ±1.4	39.1 ₃ ±1.4
0.5	51.0 ₄ ±10.8	17.2 ₄ ±3.7	34.4 ₄ ±5.1
1.0	48.0 ₃ ±3.6	19.6 ₃ ±7.7	32.2 ₃ ±5.6
2.0	40.4 ₃ ±10.3	23.3 ₃ ±5.6	36.4 ₃ ±7.4
3.0	46.1 ₄ ±5.1	20.6 ₄ ±3.0	32.7 ₄ ±7.3
5.0	55.3 ₅ ±7.9	22.6 ₅ ±4.9	20.5 ₅ ±2.1
7.0	51.7 ₃ ±4.0	25.7 ₃ ±3.8	22.7 ₃ ±0.2
10.0	51.4 ₃ ±5.7	28.4 ₃ ±2.2	17.4 ₃ ±5.8
15.0	41.7 ₃ ±1.2	28.9 ₃ ±2.8	27.9 ₃ ±3.9
30.0	54.7 ₃ ±3.4	19.0 ₃ ±7.3	25.3 ₃ ±3.8

Tabelle 10:

% Anteil der Aktivitätsverteilung ($\bar{x} \pm s$) in den einzelnen Fraktionen nach i.v. Injektion von p-J-131 Phenylpentadecansäure				
Zeit (min)	Triglyceride	freie Fettsäure	Benzoe-säure	Phospholipide
0.25	6.9 ₃ ±1.5	20.4 ₃ ±2.1	9.6 ₃ ±0.7	60.7 ₃ ±2.4
0.5	10.7 ₄ ±1.6	19.2 ₄ ±4.4	41.7 ₄ ±3.5	35.8 ₄ ±4.1
1.0	22.7 ₃ ±8.9	14.5 ₃ ±3.4	39.1 ₃ ±6.4	31.5 ₃ ±8.7
2.0	11.9 ₃ ±0.3	9.0 ₃ ±2.0	56.9 ₃ ±7.0	27.0 ₃ ±4.2
3.0	14.5 ₄ ±3.8	6.5 ±1.1	55.7 ₄ ±9.1	22.0 ₄ ±2.4
5.0	18.3 ₅ ±4.2	9.5 ₅ ±1.0	51.3 ₅ ±2.5	28.2 ₅ ±4.3
7.0	24.5 ₃ ±0.4	4.9 ₃ ±0.3	47.4 ₃ ±2.1	22.8 ₃ ±2.5
10.0	18.9 ₁	5.9 ₃ ±1.3	49.3 ₁	15.2 ₃ ±10.5
15.0	3.0 ₃ ±10	10.0 ₃ ±2.8	62.9 ₃ ±3.7	21.0 ₃ ±2.6
30.0	9.1 ₃ ±1.9	9.6 ₃ ±0.8	62.7 ₃ ±17.9	9.0 ₃ ±3.1

Tabelle 11:

% Anteil der inj Dosis/g Herz in den einzelnen Fraktionen ($\bar{x} \pm s$) nach i.v. Injektion von 1-1.5 μ Ci: ω -p-J-131-Phenylpentadecansäure			
Zeit (min)	organische Phase	wässrige Phase	Geweberest
0.25	10.7 ₃ ± 0.4	1.5 ₃ ± 0.1	8.0 ₃ ± 0.3
0.5	13.3 ₄ ± 2.8	4.5 ₄ ± 1.0	8.9 ₄ ± 1.3
1.0	15.6 ₃ ± 1.2	6.4 ₃ ± 2.5	10.5 ₃ ± 1.8
2.0	14.0 ₃ ± 2.6	7.5 ₃ ± 1.8	11.6 ₃ ± 2.4
3.0	14.6 ₄ ± 1.6	6.5 ₄ ± 0.9	10.3 ₄ ± 2.3
5.0	13.1 ₅ ± 1.9	5.3 ₅ ± 1.9	4.9 ₅ ± 0.5
7.0	10.2 ₃ ± 0.8	5.1 ₃ ± 0.8	4.5 ₃ ± 0.1
10.0	8.2 ₃ ± 0.9	4.5 ₃ ± 0.4	2.8 ₃ ± 0.9
15.0	4.8 ₃ ± 0.1	3.4 ₃ ± 0.3	3.2 ₃ ± 0.5
30.0	4.6 ₃ ± 0.3	1.6 ₃ ± 0.6	2.1 ₃ ± 0.3

Tabelle 12:

% Anteil der inj. Dosis/g Herz in den einzelnen Fraktionen ($\bar{x} \pm s$) nach i.v. Injektion von 1-1.5 μ Ci: (n)-p-J-131-Phenylpentadecansäure					
Zeit (min)	Triglyceride	freie Fettsäure	Benzoe- säure	Phospho- lipide	org. Phase Benzoessäure
0.25	0.7 ₃ ± 0.2	2.2 ₃ ± 0.2	1.0 ₃ ± 0.1	6.5 ₃ ± 0.3	9.7 ₃ ± 0.1
0.5	1.4 ₄ ± 0.2	2.6 ₄ ± 0.5	5.6 ₄ ± 0.4	4.8 ₄ ± 0.6	7.4 ₄ ± 0.6
1.0	3.5 ₃ ± 1.4	2.3 ₃ ± 0.5	6.1 ₃ ± 1.0	4.5 ₃ ± 1.4	9.7 ₃ ± 1.0
2.0	1.5 ₃ ± 0.1	1.2 ₃ ± 0.3	7.3 ± 0.9	3.5 ₃ ± 0.5	8.0 ± 0.9
3.0	2.1 ₄ ± 0.6	1.0 ₄ ± 0.2	8.1 ₄ ± 0.3	3.2 ₄ ± 0.4	6.5 ₄ ± 1.3
5.0	2.4 ₅ ± 0.6	1.2 ₅ ± 0.1	6.7 ₅ ± 0.3	3.7 ₅ ± 0.6	6.4 ₅ ± 0.4
7.0	2.5 ₃ ± 0.1	0.5 ₃ ± 0.1	4.8 ₃ ± 0.2	2.3 ₃ ± 0.3	5.4 ₃ ± 0.3
10.0	1.6 ₁	0.5 ₃ ± 0.1	4.1 ₁	1.3 ₃ ± 0.9	4.1 ₁
15.0	0.2 ₃ ± 0.05	0.5 ₃ ± 0.1	3.4 ₃ ± 0.2	1.2 ₃ ± 0.1	1.8 ₃ ± 0.2
30.0	0.4 ₃ ± 0.1	0.4 ₃ ± 0.1	2.9 ₃ ± 0.8	0.4 ₃ ± 0.1	1.8 ₃ ± 0.8

Tabelle 13:

% Anteil der inj. Dosis/g Herz in den einzelnen Fraktionen ($\bar{x} \pm s$) nach i.v. Injektion von ω -J-131-Heptadecansäure			
Zeit (min)	organische Phase	wässrige Phase	Geweberest
0.25	3.1 ₃ ± 0.3	16.0 ₃ ± 1.8	8.3 ₃ ± 1.0
0.5	8.3 ₄ ± 0.4	21.7 ₄ ± 2.9	6.1 ₄ ± 1.1
1.0	10.7 ₄ ± 0.5	13.3 ₄ ± 1.5	5.2 ₄ ± 0.8
1.5 ⁷	9.0 ₃ ± 0.3	11.5 ₃ ± 3.1	2.2 ₃ ± 0.8
2.0	6.4 ₄ ± 0.5	7.7 ₄ ± 0.7	2.2 ₄ ± 0.3
3.5 ⁷	3.6 ₄ ± 0.4	6.5 ₄ ± 0.6	1.7 ₄ ± 0.2
5.0	2.6 ₃ ± 0.5	4.2 ₃ ± 1.0	1.2 ₃ ± 0.3
10.0	2.3 ₄ ± 0.4	2.7 ₄ ± 0.3	1.6 ₄ ± 0.2

Tabelle 14:

% Anteil der inj.Dosis/g Herz in den einzelnen Fraktionen ($\bar{x} \pm s$) nach i.v. Injektion von ω -J-131-Heptadecansäure			
Zeit (min)	Triglyceride	freie Fettsäure	Phopholipide
0.25	0.6 ₃ ± 0.3	1.4 ₃ ± 0.4	2.5 ₃ ± 0.2
0.5	0.8 ₄ ± 0.2	1.9 ₄ ± 0.5	5.1 ₄ ± 0.3
1.0	2.6 ₄ ± 0.6	1.7 ₄ ± 0.4	3.0 ₄ ± 0.5
1.5 ⁷	4.0 ₃ ± 0.9	1.3 ₃ ± 0.4	2.6 ₃ ± 0.3
2.0	3.5 ₄ ± 0.2	1.6 ₄ ± 0.2	2.4 ₄ ± 0.2
3.5 ⁷	2.0 ₄ ± 0.1	1.0 ₄ ± 0.1	1.5 ₄ ± 0.2
5.0	1.8 ₃ ± 0.2	0.8 ₃ ± 0.3	1.3 ₃ ± 0.4
10.0	1.2 ₄ ± 0.4	0.7 ₄ ± 0.02	1.2 ₄ ± 0.2

Tabelle 15:

Rf-Werte der Standardsubstanzen nach Auftrennung mit Hilfe der Dünnschicht- chromatographie auf Kieselgel-F 254 Alufolie, Schichtdicke 0.2 mm mit dem Lauf- mittel n-Heptan-Diäthyläther-Eisessig (90:10:1)				
Triglyceride (DAB 7 Erdnußöl)	freie Fettsäure (ω-p-J-Phenylpenta- decansäure)	Phospholipide (Lecithin reinst)	Benzoessäure (p-J-Benzoessäure)	
0.41 ₇ ± 0.04	0.18 ₇ ± 0.02	keine Migration	0.09 ₇ ± 0.02	

Tabelle 16:

Messung der Aktivitätsanreicherung in Mäuseherzen (bezogen auf das Gesamtherz und pro Gramm Herz) und den Fraktionen organische Phase, wässrige Phase und Geweberest nach Injektion von C-14 Benzoesäure; injizierte Aktivität=100%; 1min p.i.			
	% der injizierten Aktivität pro Herz	% der injizierten Aktivität pro g Herz	% Verteilung der Aktivität in den einzelnen Phasen
Herz- aufnahme	0.30 ± 0.10	2.5 ± 0.6	
organische Phase	0.13 ± 0.05	1.0 ± 0.3	38.8 ± 13.0
wässrige Phase	0.13 ± 0.05	1.2 ± 0.4	47.2 ± 12.4
Gewebe- rest	0.06 ± 0.03	0.3 ± 0.05	14.0 ± 1.4

Tabelle 17:

5.2. Literaturverzeichnis

- [1] R.J. Bing, A. Siegel, J. Ungar, N. Gilbert: Studies on myocardial metabolism, *Am. J. Med.*, 187, 504 (1954)
- [2] R.P. Eaton, M. Bergmann, D. Steinberg: Kinetic studies of plasma free fatty acid and triglyceride metabolism in man, *J. Clin. Invest.*, 48, 1560 (1969)
- [3] I.B. Fritz: Factors influencing the rate of long chain fatty acid oxidation and synthesis in mammalian systems, *Physiol. Rev.*, 41, 53 (1961)
- [4] Yihong Kong, S.I. Friedberg: Rapid intracoronary radio-palmitate injection and myocardial fatty acid oxidation, *Metabolism*, 20, 681 (1971)
- [5] O. Stein, Y. Stein: Lipid Synthesis, Intracellular transport and storage, *J. Cell Biol.*, 36, 63 (1968)
- [6] R.O. Scow, S.S. Chernick: Mobilisation, transport and utilization of free fatty acids. In: *Comprehensive Biochemistry*, Ed. Florkin, Scott, 18, 20 (1964)
- [7] E.S. Weiss, E.J. Hoffmann, M.E. Phelps et al.: External detection and visualisation of myocardial ischemia with C-11 substrates in vitro and in vivo, *Circ. Res.*, 38, 24 (1976)
- [8] B. Kopec, I.P. Fritz: Properties of a purified carnitine palmitoyl-transferase, and evidence for the existence of other carnitine acyl transferases, *Can. J. Biochem.*, 49, 941 (1971)
- [9] A.A. Spector, J.E. Fletcher, J.D. Ashbrook: Analysis of long-chain free fatty acid binding to Bovine serum albumin by determination of stepwise equilibrium constants, *Biochemistry*, 10, 3229 (1971)
- [10] N.F. Crass, E.S. McCaskill, J.C. Shipp et al.: Metabolism of endogenous lipids in cardiac muscle: effect of pressure development, *Am. J. Physiol.*, 220, 428 (1971)
- [11] J.R. Neely, M.J. Rovetto, J.F. Oram: Myocardial utilization of Carbohydrate and lipid, *Progr. in Cardiol. Diseases*, 15, 289 (1972)
- [12] M.M. Ter-Pogossian, M.E. Phelps, E.J. Hoffman et al.: A Positron-Emission Transaxial Tomograph for nuclear Imaging (PETT), *Radiology*, 114, 89 (1975)
- [13] B.E. Sobel, E.S. Weiss, M.J. Welsh et al.: Detection of remote myocardial infarction in patients with Positron Emission Transaxial Tomography and intravenous ¹¹C-palmitate, *Circulation*, 55, 853 (1977)

- [14] R.A. Goldstein, M.S. Klein, M.T. Welsh et al.: External assessment of myocardial metabolism with C-11-palmitate in vivo, *J. Nucl. Med.*, 21, 342 (1980)
- [15] M.M. Ter-Pogossian, M.S. Klein, J. Markham et al.: Regional assessment of myocardial metabolic integrity in vivo by Positron-emission tomography with C-11-labeled palmitate, *Circulation*, 61, 242 (1980)
- [16] J.R. Evans: Cellular transport of long-chain fatty acids, *Can. J. Biochem.*, 42, 955 (1964)
- [17] L.A. Opie: Effects of regional ischemia on metabolism of glucose and fatty acids, *Circ. Res.* 38, 1 (1976)
- [18] V.K. Murthy, J.C. Shipp: Heart triglyceride synthesis in diabetes, *J. Molecular Cellular Card.*, 12, 299 (1980)
- [19] J.T. Whitmer, J.A. Idell-Wenger, M.J. Rovetto et al.: Control of fatty acid metabolism in ischemic and hypoxic heart, *J. Biol. Chem.*, 253, 4305 (1978)
- [20] I.B. Fritz: The metabolic consequences of effects of carnitine on long-chain fatty acid oxidation. In: *Cell. Compartmentalisation and control of Fatty Acid Metabolism*, Gran, F.C. (Ed.), Oslo, Univ. Forlaget (1968)
- [21] J.R. Evans, R.W. Gunton, R.G. Baker et al.: Use of radioiodinated fatty acid for photoscans of the heart, *Circ. Res.*, 16, 1 (1965)
- [22] R.W. Gunton, J.R. Evans, R.G. Baker et al.: Demonstration of myocardial infarction by photoscans of the heart in man, *Am. J. Cardiol.*, 16, 482 (1967)
- [23] N.D. Poe, G.D. Robinson, F.W. Zielinsky et al.: Myocardial imaging with I-123-hexadecanoic acid, *Radiology*, 124, 419 (1977)
- [24] N.D. Poe, G.D. Robinson, L.S. Graham et al.: Experimental bases for myocardial imaging with I-123-labeled hexadecanoic acid, *J. Nucl. Med.* 17, 1077 (1976)
- [25] H.J. Machulla, G. Stöcklin, Ch. Kupfernagel et al.: Comparative evaluation of fatty acids labeled with C-11, Cl-34m, Br-77, and J-123 for metabolic studies of myocardium, *J. Nucl. Med.*, 19, 298 (1978)
- [26] Chr. Freundlieb, A. Höck, K. Vyska et al.: Myocardial imaging and metabolic studies with 17-I-123-iodoheptadecanoic acid, *J. Nucl. Med.*, 21, 1043 (1980)
- [27] H.R. Schelbert, M.E. Phelps: Physiologic Tomography: A new means for the non-invasive measurement of myocardial metabolism, blood flow and function, *Eur.J.Nucl.Med.*, 5, 209 (1980)

- [28] L.E. Feinendegen, K. Vyska, Chr. Freundlieb et al.: Non-invasive analyses of metabolic reactions in body tissues, the case of myocardial fatty acids, Eur. J. Nucl. Med., 220 (1980)
- [29] L.E. Feinendegen: Fatty acids in the myocardium, Nuclear Active, 24, 17 (1981)
- [30] K. Vyska, Chr. Freundlieb, A. Höck et al.: Myocardial imaging and measurement of myocardial fatty acid metabolism using ω -I-123-heptadecanoic acid. In: Advances in Clinical Cardiology, Vol. 1, (Ed. H.W. Heiss, G. Witztroch, Publishing House, Inc. New York (1980)
- [31] L.E. Feinendegen: Myocardial scintigraphy, a review, In: Nuklearmedizin - Die klinische Relevanz der Nuklearmedizin. Hrsg. H.A.E. Schmidt, G. Riccabona, F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart-New York 220 (1980)
- [32] Chr. Freundlieb, A. Höck, K. Vyska et al.: Anwendung von J-123-markierten langkettigen Fettsäuren zum Studium des Herzmuskel-Stoffwechsels, Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung, Gasteiner Int. Symposium 1978, Verlag H. Egermann, Vienna, Bd. 13, 265 (1978)
- [33] F. Knoop: Der Abbau aromatischer Fettsäuren im Tierkörper, Betr. Z. Chem. Physiol. und Path. Braunschweig, 6, 150 (1905)
- [34] H.D. Dakin: Comparative studies of the mode of oxidation of phenyl derivatives of fatty acids by the animal organism and by hydrogen peroxide, J. Biol. Chem., 4, 419 (1908)
- [35] G. Stöcklin, H.H. Coenen, F.-F. Harmand et al.: Comparative evaluation of radiohalogenated fatty acids for myocardial and hepatocellular function analyses. In: Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung, Verlag H. Egermann, Bd. 14, 151 (1980)
- [36] H.M. Machulla, H. Marsmann, K. Dutschka: ω -(para-J-131-phenyl)-pentadecanoic acid, a highly promising radioiodinated fatty acid for myocardial imaging studies. 1. Development of synthesis and radiopharmaceutical quality control. In: Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung, Gasteiner Int. Symposium 1980, Verlag H. Egermann, Wien, Band 14, 363 (1980)
- [37] A.A. Spector: Fatty Acid Binding to Plasma Albumin, J. Lipid Res., 16, 165 (1975)
- [38] G.V. Vahoun: Myocardial metabolism. Role of nutritional state on palmitate and glucose oxidation by isolated perfused heart, Biochim. Biophys. Acta, 137, 181 (1967)

- [39] Ch. Kupfernagel (1979): Qualitätskontrolle und Pharmakokinetik C-11, F-18, Cl-34m- und I-123-markierter Fettsäuren, Rep. Jül-1551, Nov. 1978
- [40] S.J. Friedberg, B.R. Harlan, D.L. Trout et al.: The effect of exercise on the concentration and turnover of plasma non esterified fatty acids, J. Clin. Invest., 39, 215 (1980)
- [41] J. Folch, N. Lees, H.S. Stanley: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues, J. Biol. Chem., 226, 497 (1976)
- [42] D.D. Malins, H.K. Mangold: Analyses of complex lipid mixtures by thin-layer-chromatography and complementary methods, J. Am. Oil Chem. Soc., 37, 576 (1960)
- [43] O. Stein, Y. Stein: Metabolism of fatty acid in the isolated perfused rat heart, Biochim. Biophys. Acta, 70, 517 (1963)
- [44] J.L. Ritchie, G.W. Hamilton, J.F.Th. Wackers: Thallium-201; Myocardial imaging, Raven Press, New York (1978)
- [45] Suk Han, S. Riegelman: Renal contribution to overall metabolism of drugs: Conversion of benzoic acid to hippuric acid, J. Pharm. Sci., 61, 1278 (1972)
- [46] Biology data, 2. Ed., Vol. III, I.L. Altman, D.S. Ditmar, Fed. Amer. Soc. Exper. Biol. (1974)
- [47] L. Baker, D. Morris, C. Sandburg: Blood sampling techniques for studying rapidly turning over Metabolic fuels in mice, Lipids- 11, 818 (1976)
- [48] H. Borsook, J.W. Dubnoff: The biological synthesis of hippuric acid in vitro, J. Biol. Chem., 132, 407 (1939)
- [49] H. Chantrenne: The requirement for Coenzyme A in the enzymatic synthesis of hippuric acid. J. Biol. Chem., 189, 227 (1951)
- [50] D. Schachter, J.V. Taggart: Benuoyl Coenzyme A and hippurate synthesis, J. Biol. Chem., 203, 925 (1953)
- [51] H.D. Dakin: The Fate of sodium-benzoate in the human organism, J. Biol., Chem., VII, 103 (1909)
- [52] W.H. Griffith, H.B. Lewis: Studies on the synthesis of hippuric acid in the animal organism, J. Biol. Chem., IVII, 1 (1923)
- [53] A.J. Quick: The conjugation of substituted benzoic acid, J. Biol. Chem., 96, 83 (1932)

- [54] M. Tubis, W.H. Blahd, J.S. Endow: The metabolism of ortho-I-131-Iodobenzoic acid, *J. Nucl. Med.*, 5, 532 (1964)
- [55] N.J. Novello, S.R. Miriam, C.P. Sherwin: Fate of some halogen derivatives of benzoic acid in the animal body, *J. Biol. Chem.* IXII, 555 (1926)
- [56] G. Magnusson: Kidney function studies with I-131-Tagged sodium ortho-Iodo-Hippurat. Esselte Aktiebolag, Stockholm (1962)
- [57] N.D. Blafox: Compartment analysis of the radiorenogram and kinetics of I-131 Hippuran, *Progr. Nucl. Med.*, 2, 107 (1972)
- [58] H.W. Smith, N. Finkelstein, L. Aliminosa et al.: The renal clearance of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dog and man, *J. Clin. Invest.*, 24, 388 (1945)
- [59] S. Schiff, M. Steinburg, S. Stewart: Gastric (and salivary) excretion of radioiodine in man. *J. Nat. Cancer Inst.*, 7, 349 (1947)
- [60] M. Swick: Excretion urography by means of the intravenous and oral administration of sodium ortho-iodohippurate with some physiological considerations, *Surgery, Gynecology and Obstetrics*, 56, 62 (1933)
- [61] A.R. Shipley, R.E. Clark: Tracer methods for in vivo kinetics, Academic Press, New York (1972)
- [62] K. Vyska, A. Höck, Chr. Freundlieb et al.: Liver scanning and hepatocellular function analysis with radioiodinated fatty acids. In: *Verhandlungsbericht der 16. Internationalen Jahrestagung der Gesellschaft für Nuklearmedizin*, Madrid, 24.-27. Okt. (1980)
- [63] C. Waterhouse, J.H. Kemperman, J.M. Stormont: Alterations in triglyceride metabolism as produced by dietary change, *J. Lab. & Clin. Med.*, 63, 605 (1964)
- [64] B. Lösse, A. Höck, Rafflenbeul et al.: Comparative myocardial scintigraphy with I-123-Heptadecanoic acid and Thallium-201, *Europ. Soc. Card., Workshop Use of Isotopes*, Tours, 21-22 May (1979)
- [65] E. Lebowitz, N.W. Greene, R. Fairchild et al.: Thallium-201 for medical use, *J. Nucl. Med.*, 16, 151 (1975)
- [66] E.S. Weiss, E.J. Hoffman, M.E. Phelps et al.: External detection of altered metabolism of C-11-labeled substrates in ischemic myocardium, *Clin. Res.*, 23, 383a (1975)

- [67] E.J. Hoffman, M.E. Phelps, E.S. Weiss et al.: Transaxial tomographic imaging of Canine myocardium with C-11-palmitic acid, Nucl. Med., 18, 57 (1977)
- [68] J.R. Evans, L.H. Opie, J.C. Ship: Metabolism of palmitic acid in perfused rat heart, Am. J. Physiol., 205, 766 (1963)
- [69] O. Stein, Y. Stein: Metabolism of fatty acids in the isolated heart, Biochim. Biophys. Acta, 70, 517 (1963)
- [70] J.A. Idell-Wenger, J.W. Grutyohann, J.R. Neely: Coenzyme A and carnithine distribution in normal and ischemic hearts, J. Biol. Chem., 25, 4310 (1978)
- [71] K. Vyska, A. Höck, Chr. Freundlieb et al.: Myocardial imaging and measurement of myocardial fatty acid metabolism using ω -I-123-heptadecanoic acid, Abstract, J. Nucl. Med., 20, 650 (1979)
- [72] K. Vyska, A. Höck, Chr. Freundlieb et al.: Stoffwechsel-Untersuchung am Herzen mit J-123-Fettsäuren und C-11-Methylglucose, Nuklearmedizin, Bd. 20, Heft 3, 148 (1981)

Lebenslauf

Am 6.2.1953 wurde ich, Hans-Jürgen Daus, als Sohn des Helmut Daus und seiner Ehefrau Irmgard Daus, geb. Ortmüller, in Bad Berleburg/Kreis Wittgenstein in Westfalen, geboren.

Ich besuchte von 1959 bis 1966 die Volksschule in Bad Berleburg, erlangte an dem Aufbaugymnasium in Laaspe/Westfalen 1970 die Mittlere Reife und auf der Fachoberschule für Technik in Paderborn 1972 die Fachhochschulreife. Anschließend studierte ich nach einer halbjährigen Vorbereitungszeit im SOS-Kinderdorf Pfalz in Eisenberg an der Gesamthochschule in Siegen 2 Semester Sozialarbeit. 1974 Wechsel an das Abendgymnasium der Stadt Düsseldorf mit Abschluß der allgemeinen Hochschulreife im Dezember 1975.

Anfang 1976 Beginn des Medizinstudiums, Frühjahr 1978 Physikum, 1979 1. Abschnitt des Ärztlichen Staatsexamens, 1981 2. Abschnitt des Ärztlichen Staatsexamens und im April 1982 3. Abschnitt des Ärztlichen Staatsexamens.

Im August 1978 begann ich meine Tätigkeit als Doktorand und wiss. Hilfskraft im Institut für Nuklearmedizin der Kernforschungsanlage Jülich.

Düsseldorf, den 10.5.1982 *Hans-Jürgen Daus*

